

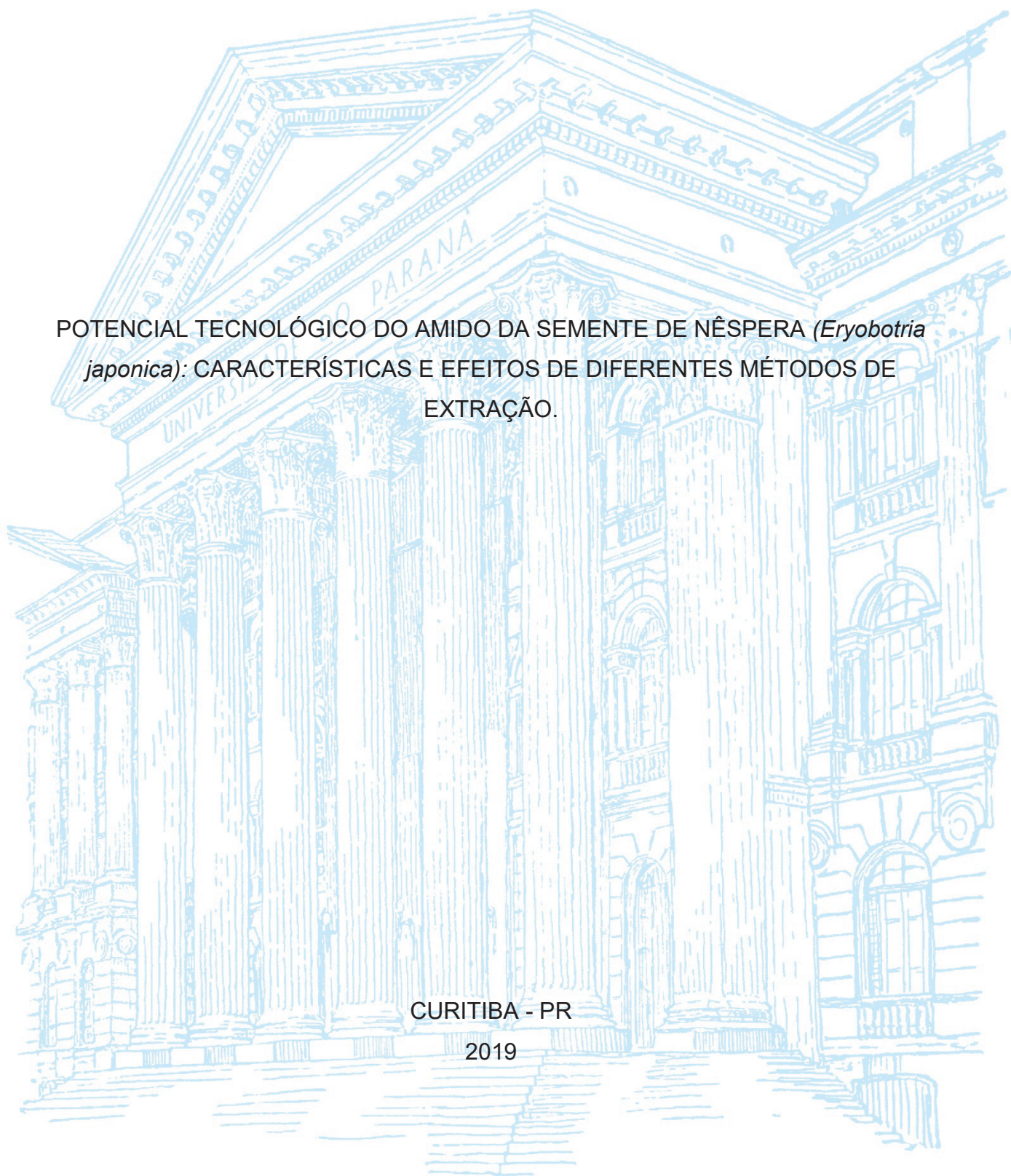
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BRUNO PATRÍCIO COSTA

POTENCIAL TECNOLÓGICO DO AMIDO DA SEMENTE DE NÊSPERA (*Eryobotria japonica*): CARACTERÍSTICAS E EFEITOS DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.

CURITIBA - PR

2019



BRUNO PATRÍCIO COSTA

POTENCIAL TECNOLÓGICO DO AMIDO DA SEMENTE DE NÊSPERA (*Eryobotria japonica*): CARACTERÍSTICAS E EFEITOS DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, no Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, no setor de tecnologia, da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosemary Hoffmann Ribani

CURITIBA - PR

2019

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR  
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

---

C837p Costa, Bruno Patrício  
Potencial tecnológico do amido da semente de nêspira  
(*Eryobotria japonica*): características e efeitos de diferentes  
métodos de extração [recurso eletrônico] / Bruno Patrício Costa –  
Curitiba, 2019.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de  
Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia de  
Alimentos.

Orientadora: Rosemary Hoffmann Ribani

1. Nêspira (*Eryobotria japonica*). 2. Amido. 3. Antioxidantes. I.  
Universidade Federal do Paraná. II. Ribani, Rosemary Hoffmann.  
III. Título.

CDD: 583.642



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR SETOR DE TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA DE  
ALIMENTOS - 40001016019P6

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA DE ALIMENTOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **BRUNO PATRÍCIO COSTA** intitulada: **POTENCIAL TECNOLÓGICO DO AMIDO DA SEMENTE DE NÊSPERA (*Eryobotria japonica*): CARACTERÍSTICAS E EFEITOS DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.**, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 10 de Maio de 2019.

ROSEMARY HOFFMANN RIBANI  
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

JOÃO LUIZ ANDREOTTI DAGOSTIN  
Avaliador Externo (UFPR)

GERSON LOPES TEIXEIRA  
Avaliador Externo (UFSC)

Dedico este trabalho a Deus e minha família,  
pois sem estes apoios primordiais não seria  
capaz de persistir, vencer e ir até o fim desta  
caminhada.



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Universidade Federal do Paraná (UFPR) e ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos (PPGEAL) pela oportunidade e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida para realização do mestrado.

Aos laboratórios e respectivos analistas: Centro Microscopia Eletrônica de Varredura (CMEV) (Luís Gustavo de Matos dos Santos), Central analítica das Usinas Piloto (Andrea Briones Gonçalves Bonassoli), FTIR / TD-NMR – Química (Grazielli da Rocha), Tecnologia de Alimentos do Curso de Nutrição (Jair José de Lima) pelos espaços cedidos e pelas realizações de análises.

Aos meus pais, Bernadeth e Ciba, por sempre acreditarem em mim e por estarem ao meu lado em todos os momentos, além de todo o cuidado durante a minha vida. Minha irmã e os meus sobrinhos que por muitas vezes serviram de espelho para a calma que precisamos ter durante os problemas da vida e brincadeiras de criança para tornar tudo mais leve.

À professora Dr<sup>a</sup> Rosemary Hoffmann Ribani, por ter me aceito como orientado e ter confiado e acreditado no meu trabalho. Pela amizade, dedicação e respeito como orientadora, pela compreensão e toda a ajuda durante esse período.

À Dr<sup>a</sup> Danielle Carpiné, pela orientação e por toda a troca de conhecimento neste período de intenso aprendizado. Pela amizade e confiança.

À Rafaela Turola Barbi pela parceria e apoio no projeto inicial com amido de nêspira, por todos os ensinamentos, incentivo e ajuda com algumas análises e extração. Pela amizade e confiança.

Aos grandes amigos (Anely, Fillemon e Mônica), pela amizade, companheirismo, os momentos de estudos e risadas, além de aguentarem minhas piadas nesse período.

“Hoje é o amanhã que você tanto  
esperava ontem.”

Sebastião José

## RESUMO

Os métodos de extração de amido são determinantes nas características destes, impactando em suas futuras aplicações industriais e comerciais. Propriedades como composição química, tamanho e forma dos grânulos e as propriedades funcionais dos amidos revelam o potencial de melhor aproveitamento destes, para estabelecer novas aplicações e produtos. Existe uma crescente no estudo e na procura por novas fontes amiláceas impulsionada pela necessidade e demanda industrial para o aproveitamento de resíduos visando melhorias de processo e aumento do lucro. Assim, a semente do fruto da nêspira, pertencente à família das *rosaceas*, coproduto que representa de 16 a 19% do fruto foi a matriz de estudo dessa pesquisa. O fruto apresenta em sua composição compostos fenólicos e antioxidantes (Carotenóides e vitamina C) e sua semente possui elevada presença de amido em sua estrutura, carreando consigo compostos benéficos ao consumo humano e desejáveis ao desenvolvimento de novos produtos. Embora apresente uma quantidade considerável de amido com boas características funcionais, as sementes de nêspira ainda vêm sendo tratadas como resíduo. Dessa forma, objetivou-se avaliar a influência dos métodos de extrações ácida (AC), alcalina (AL) e aquosa (AG) do amido da semente de nêspira em relação às suas propriedades físico-químicas, térmicas, reológicas, morfológicas, bioativas e funcionais. Por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV), foi possível observar que o amido AC se diferenciou do AL e AG, apresentando grânulos quebrados e com menor presença de outros componentes (fibras, proteínas, lipídios). Os picos identificados ( $15^\circ$ ,  $17^\circ$  e  $23^\circ$   $2\theta$ ) pela análise de difração de Raios-X foram correlacionados ao padrão de amido Tipo C. As propriedades térmicas foram mensuradas por meio de ensaios termogravimétricos de TG/DG e por calorimetria diferencial de varredura (DSC) apresentando menor valor de temperatura de gelatinização para AC ( $56,82^\circ\text{C}$ ), seguido de AG e AL ( $57,29^\circ\text{C}$  e  $57,90^\circ\text{C}$ , respectivamente). Os amidos extraídos por metodologia ácida e alcalina apresentaram cores amareladas e avermelhadas respectivamente, sugerindo a presença de compostos fenólicos com atividade antioxidante. De modo geral, os amidos de nêspira obtidos a partir de diferentes métodos de extração apresentaram potencial para futuras aplicações industriais, como ingredientes alimentares ou incorporados em embalagens biodegradáveis e bioativas.

Palavras-chave: Nêspira, extração de amido, extração ácida, extração alcalina, compostos bioativos, antioxidante, gelatinização.



## ABSTRACT

The extraction methods are determinant in the characteristics of the starch. The methods can impact in its future industrial use and commercial applications. Properties such as chemical composition, granule size and shape, amylose and amylopectin ratio, and the functional properties of starches reveal the potential for better utilization of starches to new applications and products. There is a growing demand for use and study of new sources of starch, driven by the industrial necessity and demand and the decrease of agroindustry waste. Thus, the seed of Loquat Fruit, a co-product that represents 16 to 19% of the fruit that originates in China belonging to the *rosaceae* family, was the subject of this research. The fruit presents in its composition phenolic compounds and antioxidants (Carotenoids and vitamin C) and its seed has about 22% of starch in its structure, carrying beneficial compounds to human consumption and desirable to the development of new products. Although presenting a considerable amount of starch with good functional characteristics, Loquat seeds are still treated as a residue. The objective of this study was to evaluate the influence of the different methods of acidic (AC), alkaline (AL) and aqueous (AG) extractions of the loquat seed starch in relation to their physicochemical, thermal, rheological, morphological, bioactive and functional properties. Through the scanning electron microscopy (SEM), it was possible to observe that AC starch differed from AL and AG, presenting broken granules and less presence of other components (fibers, proteins, lipids). However, the AL starch obtained higher yield (22%). The X-ray diffraction analysis was correlated to the Type C starch crystallinity (peaks 15 °, 17 ° and 23 ° 2 $\theta$ ). The thermal properties were measured by thermogravimetric TG / DTG and Differential Scanning Calorimetry (DSC) assays showing lower gelatinization values for AC, AG and AL (56.82 ° C, 57.29 ° C and 57.90 ° C). The starches extracted by acid and alkaline methodology presented yellowish and reddish colors respectively, referring to the presence of phenolic compounds and the preservation of the antioxidant activity. In general, loquat starches obtained from different extraction methods presented potential for future industrial applications, as food ingredients or incorporated into biodegradable and bioactive packages.

Key-words: Loquat, starch isolation, acid steeping, alkaline steeping, bioactive compounds, antioxidant, gelatinization.

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b> - REGIÕES CRISTALINAS E AMORFAS PRESENTES EM GRÂNULOS DE AMIDO .....	<b>26</b>
<b>FIGURA 2</b> - VISÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRUTURA DO GRÂNULO DE AMIDO.....	<b>27</b>
<b>FIGURA 3</b> - REPRESENTAÇÃO DA ESTRUTURA HELICOIDAL DA AMIOSE .....	<b>29</b>
<b>FIGURA 4</b> - REPRESENTAÇÃO ESTRUTURAL DOS CRISTAIS DO TIPO A E B EM AMIDOS.....	<b>33</b>
<b>FIGURA 5</b> - FRUTOS DE NÊSPERA MADUROS .....	<b>37</b>
<b>FIGURA 6</b> - COMPOSTOS AROMÁTICOS PRESENTE NA NÊSPERA .....	<b>40</b>
<b>FIGURA 7</b> - FLUXOGRAMA PARA OBTENÇÃO DE AMIDO POR VIA ÁCIDA (AC).....	<b>45</b>
<b>FIGURA 8</b> - FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO DO AMIDO EM MEIO ALCALINO (AL) ..	<b>47</b>
<b>FIGURA 9</b> - FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO DO AMIDO COM ÁGUA (AG) .....	<b>48</b>
<b>FIGURA 10</b> - PARÂMETROS PARA O CÁLCULO DA CRISTALINIDADE .....	<b>52</b>
<b>FIGURA 11</b> - AMIDOS EXTRAÍDOS DA SEMENTE DE NÊSPERA POR VIA ÁCIDA, AQUOSA E ALCALINA.....	<b>60</b>
<b>FIGURA 12</b> - MICROGRAFIAS DOS GRÂNULOS DE AMIDO DE NÊSPERA PROVENIENTE DA EXTRAÇÃO ÁCIDA OBTIDOS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV). .....	<b>63</b>
<b>FIGURA 15</b> - CURVAS DE DRX PARA AS AMOSTRAS AC, AG E AL .....	<b>66</b>
<b>FIGURA 16</b> - PADRÕES DE COMPORTAMENTO DO AMIDO OBTIDOS POR EXTRAÇÃO ÁCIDA (AC), AQUOSA (AG) E ALCALINO (AL) .....	<b>69</b>
<b>FIGURA 17</b> - CURVAS TG/DTG DE AMIDOS DAS SEMENTES DE NÊSPERA.....	<b>71</b>
<b>FIGURA 18</b> - CURVAS DSC DE GELATINIZAÇÃO DE AMIDOS DAS SEMENTES DE NÊSPERA.....	<b>74</b>
<b>FIGURA 19</b> - PADRÕES DE COMPORTAMENTO DE FTIR OBTIDOS PARA OS AMIDOS AC, AG E AL.....	<b>77</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> - ESTADOS BRASILEIROS QUE EXTRAEM GRANDES QUANTIDADES DE AMIDO DA RAÍZ DE MANDIOCA.....	<b>21</b>
<b>TABELA 2</b> - PICOS DE TEMPERATURA DE GELATINIZAÇÃO DE VÁRIOS TIPOS DE AMIDO OBTIDAS POR DSC. ....	<b>31</b>
<b>TABELA 3</b> - APLICAÇÕES TECNOLÓGICAS DE AMIDOS NAS INDÚSTRIAS DE ALIMENTOS .....	<b>34</b>
<b>TABELA 4</b> - COMPONENTES DO FRUTO DE NÊSPERA (equivalente a 100 g do fruto) .....	<b>39</b>
<b>TABELA 5</b> - VALORES MÉDIOS DE RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO.....	<b>57</b>
<b>TABELA 6</b> - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DE AMIDOS ISOLADOS DE SEMENTES DE NÊSPERA EM BASE SECA. ....	<b>58</b>
<b>TABELA 7</b> - PARÂMETROS $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ DOS AMIDOS OBTIDOS POR DIFERENTES EXTRAÇÕES.....	<b>60</b>
<b>TABELA 8</b> - VALORES OBTIDOS PARA HIGROSCOPICIDADE, SOLUBILIDADE E MOLHABILIDADE DOS AMIDOS EXTRAÍDOS .....	<b>61</b>
<b>TABELA 9</b> - VALORES DE DIÂMETRO MÉDIO DOS AMIDOS DE NÊSPERA.....	<b>65</b>
<b>TABELA 10</b> - RESULTADOS DE DRX PARA AMIDOS DE NÊSPERA.....	<b>67</b>
<b>TABELA 11</b> - PARÂMETROS DO COMPORTAMENTO DA PASTA OBTIDOS POR RVA PARA AC, AG E AL.....	<b>69</b>
<b>TABELA 12</b> - RESULTADOS DAS CURVAS TG/DTG DOS AMIDOS DAS SEMENTES DE NÊSPERA.....	<b>72</b>
<b>TABELA 13</b> - RESULTADOS DE DSC DE GELATINIZAÇÃO DE AMIDOS DAS SEMENTES DE NÊSPERA. ....	<b>73</b>
<b>TABELA 14</b> - TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS (TPC) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE AMIDOS DAS SEMENTES DE NÊSPERA PELOS ENSAIOS DPPH, ABTS E FRAP.....	<b>77</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**ABTS** – 2,2'-azino-bis(3etil-benzolína-6-sulfonado)

**AC** – Amido proveniente de extração ácida

**AG** – Amido proveniente de extração aquosa

**AL** – Amido proveniente de extração alcalina

**DAD** – Diode Array Detection

**DPPH** – Radical 1,1 -difeníl-2-picrílhídrazil

**DRX** – Difração de raios-X

**DSC** – Calorimetria exploratória diferencial

**DTG** – Termogravimetria derivada

**FRAP** – Ferric reducing antioxidant power

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>19</b>
2.1. OBJETIVO GERAL.....	19
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	19
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>20</b>
3.1. AMIDOS CONVENCIONAIS .....	20
3.1.1. AMIDO DE MANDIOCA.....	20
3.1.2. AMIDO DE BATATA .....	21
3.1.3. AMIDO DE MILHO .....	22
3.2. AMIDOS NÃO-CONVENCIONAIS .....	23
3.3. AMIDOS MODIFICADOS .....	24
3.4. ESTRUTURA QUÍMICA E PROPRIEDADE DOS AMIDOS .....	25
3.4.1. AMIOLOSE E AMILOPECTINA.....	27
3.4.2. GELATINIZAÇÃO .....	30
3.4.3. RETROGRADAÇÃO .....	31
3.4.4. CRISTALINIDADE DO AMIDO .....	32
3.5. POTENCIAL TECNOLÓGICO E APLICAÇÃO DOS AMIDOS .....	33
3.6. EXTRAÇÕES DE AMIDO.....	34
3.6.1. EXTRAÇÃO ÁCIDA .....	35
3.6.2. EXTRAÇÃO ALCALINA.....	36
3.6.3. EXTRAÇÃO AQUOSA.....	36
3.7. NÊSPERA .....	37
3.8. AMIDO DE NÊSPERA.....	40
3.9. COMPOSTOS BIOATIVOS.....	41
3.9.1. ANTIOXIDANTES .....	41

3.10. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>44</b>
4.1. MATÉRIA-PRIMA - SEMENTES DE NÊSPERA .....	44
4.2. MÉTODOS DE OBTENÇÃO DO EXTRATO AMILÁCEO.....	44
4.2.1. EXTRAÇÃO POR VIA ÁCIDA (AC) .....	44
4.2.2 EXTRAÇÃO POR VIA ALCALINA (AL).....	46
4.2.3 EXTRAÇÃO POR VIA NEUTRA (AG) .....	47
4.3. CARACTERIZAÇÃO DO AMIDO .....	48
4.3.1. CÁLCULO DE RENDIMENTO DO AMIDO .....	48
4.3.2. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO EXTRATO AMILÁCEO.....	49
4.3.3. COLORIMETRIA.....	49
4.3.4. PROPRIEDADES DE INCHAMENTO DO AMIDO .....	50
4.3.4.1. HIGROSCOPICIDADE .....	50
4.3.4.2. SOLUBILIDADE .....	50
4.3.4.3. MOLHABILIDADE .....	51
4.3.5. DIFRATOMETRIA DE RAIOS-X.....	51
4.3.6. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) .....	52
4.4. CARACTERIZAÇÃO DE PASTA DOS GÉIS DE AMIDO .....	52
4.4.1. RVA – RAPID VISCO ANALYZER.....	52
4.5. PROPRIEDADES TÉRMICAS DO AMIDO – ANÁLISES TÉRMICAS.....	53
4.5.1. TERMOGRAVIMETRIA (TG) E TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (DTG) .....	53
4.5.2. CALORÍMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	53
4.5.3. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO COM RETOMADA DE FOURIER (FTIR).....	54
4.6. COMPOSTOS BIOATIVOS .....	54



4.6.1. COMPOSTOS FENÓLICOS.....	54
4.6.2. EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS.....	54
4.6.3. ANÁLISE E QUANTIFICAÇÃO DE FENÓLICOS TOTAIS .....	55
4.6.4. ANTIOXIDANTES .....	55
4.6.4.1. DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE DE SEQUESTRO DO RADICAL DPPH • .....	55
4.6.4.2. DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE REDUÇÃO DE FERRO (FRAP).....	56
4.6.4.3. DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE SEQUESTRO DE RADICAIS ABTS •+ .....	56
4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	57
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>57</b>
5.1. RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO.....	57
5.2. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS AMIDOS DE SEMENTES DE NÊSPERA ...	58
5.3. CARACTERIZAÇÃO DE COR DOS AMIDOS.....	60
5.4. CARACTERIZAÇÃO DE HIGROSCOPICIDADE, SOLUBILIDADE E MOLHABILIDADE DOS AMIDOS.....	61
5.4.1. SOLUBILIDADE.....	61
5.4.2. HIGROSCOPICIDADE .....	62
5.4.3. MOLHABILIDADE.....	62
5.5. CARACTERÍSTICA MORFOLÓGICA E ESTRUTURA CRISTALINA DOS AMIDOS DAS SEMENTES DE NÊSPERA .....	63
5.5.1. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) .....	63
5.5.2 DIFRATOMETRIA DE RAIOS-X (DRX).....	66
5.6. CARACTERIZAÇÃO DA FORMAÇÃO DE PASTA EM AMIDOS.....	68
5.6.1. RVA – RAPID VISCO ANALYZER.....	68
5.7. PROPRIEDADES TÉRMICAS DO AMIDO – ANÁLISES TÉRMICAS.....	71

5.7.1. TERMOGRAVIMETRIA (TG) E TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (DTG) .....	71
5.7.2. CALORÍMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	73
5.7.3. ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO (FTIR) .....	74
5.8. COMPOSTOS BIOATIVOS .....	77
5.8.1. TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS (FT) E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE .....	77
<b>6. POTENCIAL TECNOLÓGICO E APLICAÇÃO DO AMIDO MODIFICADO DE NÊSPERA.....</b>	<b>79</b>
<b>7. CONCLUSÕES.....</b>	<b>80</b>
<b>8. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>82</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, existe uma forte tendência global para a produção e consumo sustentável de alimentos. A busca por melhorias de qualidade e desenvolvimento tecnológico, assim como a redução de resíduos e desperdício de possíveis matérias-primas, compõem essa tendência visando também um menor impacto ambiental. No meio das atuais discussões a este respeito, é necessário a aplicação do conhecimento científico para a redução do desperdício e maior aproveitamento de resíduos. As indústrias produtoras de sucos e polpas congeladas são as principais responsáveis pela produção de resíduos agroindustriais como cascas e sementes. Estes resíduos, em sua grande maioria, não são bem aproveitados causando impactos severos no meio-ambiente. O aproveitamento de cascas e sementes minimizam a produção de lixo orgânico, servindo como alternativas contra o desperdício. A produção de novos produtos com base no uso de resíduos agroindustriais corresponde a uma emergente alternativa sustentável.

O grande interesse em novas fontes de amido que sejam capazes de suprir a necessidade mercadológica por novas fontes amiláceas, visam a redução de gastos e consequentemente aumentando o lucro. O Brasil, país tipicamente tropical, apresenta condições ambientais e solos férteis propícios para o desenvolvimento de uma grande variedade vegetal em seu território, apresentando como grande vantagem a diversidade de espécies. Muitos frutos e vegetais, como bacupari (*Garcinia gardneriana*), babaçu (*Attalea speciosa*) e a nêspera (*Eriobotrya Japonica* Lindl.) ainda são pouco difundidos e, consequentemente, pouco estudados.

A nêspera, fruto popularmente conhecido como ameixa amarela, proveniente da nespereira, árvore nativa da Ásia, é considerada não-nativa, de sabor adocicado e ácido. É facilmente encontrada em países como Austrália, Brasil, Israel, Itália, Espanha e Turquia. No Brasil, a nêspera é bastante difundida nas regiões Sul e Sudeste do país, especificamente no estado de São Paulo, responsável pela maior produção do fruto. O boletim do instituto agrônomo de São Paulo estimou que em 2008, o estado possuía cerca de 320 mil plantas de nêspera, totalizando 45% da comercialização brasileira.

A fruta da nespereira, em média, consiste de 65 – 70% de polpa e 8 – 9% de casca. As sementes, de coloração marrom, variam de 3 a 7 unidades, representando até 19% do fruto tendo em sua composição cerca de 20% de amido. Segundo Barbi et al., (2018), a semente de nêspereira apresenta quantidades consideráveis de substâncias antioxidantes, tais como compostos fenólicos, vitamina C e carotenóides. Apresenta grande relevância em estudos farmacêuticos por apresentar compostos com ação anti-inflamatória e anticarcinogênica (KAWAHITO et al., 2007). Mesmo sendo rica em compostos bioativos, antioxidantes, e com grande potencial de aplicação industrial, a semente de nêspereira tem sido alvo de poucos estudos, e o seu destino ainda é o descarte, colaborando com a geração de resíduos sólidos.

Barbi et al., (2018), propuseram a utilização das sementes para obtenção de amido, cuja extração se deu por via aquosa, indicando a necessidade de futuros estudos para melhorar a obtenção do amido desta matriz.

O meio de isolamento, caracterização granular e propriedades físico-químicas são fundamentais na busca do aperfeiçoamento industrial avaliando o aproveitamento de resíduos. A extração de amido na indústria de alimentos é feita por diversos métodos, como exemplo uma extração verde. Todos os métodos de extração e suas variações influenciam nas características do amido extraído, e consequentemente nas suas propriedades. As principais características modificadas são: eficiência da extração, pureza, propriedades morfológicas, térmicas e funcionais como queda na temperatura de formação de pasta e na viscosidade, higroscopicidade, entre outras. Essas alterações se devem à modificação causada na estrutura e na composição química do grânulo de amido. A remoção de lipídios, diminuição da quantidade de fibras ou solubilização das proteínas e compostos fenólicos influenciam diretamente na aplicação dos amidos estudados.

Portanto, a verificação da influência de diferentes métodos de extração e suas modificações causadas sobre as características funcionais nessa nova fonte amilácea pouco estudada, se faz necessária. Este estudo contribuirá na indicação do melhor método de extração do amido, considerando as características estudadas auxiliando na definição do seu potencial tecnológico. Além disso, os resultados aqui obtidos contribuirão para agregação de valor a

esta fruta, reduzindo a quantidade de sementes descartadas como resíduo no seu processamento, estabelecendo a obtenção do amido como coproduto, contribuindo diretamente para a sustentabilidade do meio ambiente.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar o efeito de diferentes processos de extração sobre as características físico-químicas, funcionais, morfológicas, reológicas, térmicas e a presença de compostos bioativos do amido obtido de semente de nêspera, provenientes de extração ácida, alcalina e aquosa.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar o potencial e a eficiência de diferentes métodos de extração (extração aquosa, ácida e alcalina) do amido da semente de nêspera;
- Avaliar a composição centesimal do amido de sementes de nêspera provenientes da extração ácida, alcalina e aquosa;
- Investigar as propriedades funcionais do amido por meio da solubilidade, higroscopicidade e molhabilidade.
- Estudar as propriedades reológicas de pasta dos amidos obtidos
- Comparar os dados obtidos em propriedades morfológicas com os dados de amidos convencionais.
- Analisar o comportamento térmico do amido de nêspera através de análises térmicas TG/DTG e DSC.
- Determinar a atividade antioxidante *in vitro* do extrato amiláceo por diferentes métodos.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 AMIDOS CONVENCIONAIS

O amido é um polímero abundantemente presente na natureza, sendo encontrado em todas as formas de vegetais (raízes, frutas e sementes). Sendo considerado a fonte mais importante de carboidratos na dieta humana, o amido é responsável pelas propriedades tecnológicas que caracterizam grande parte dos produtos processados. Em sua estrutura são encontradas cadeias de amilose e amilopectina.

O baixo custo do amido e a facilidade de adaptação aos processos industriais são os fatores determinantes do seu uso como ingrediente alimentício. O amido pode ser utilizado como ingrediente calórico e como melhorador de propriedades físico-químicas.

O emprego industrial do amido se deve à sua característica de poder ser utilizado diretamente na forma de grânulos, causando alterações ou controlando textura, aparência, umidade, consistência e estabilidade no armazenamento.

As fontes mais comuns de amido alimentício são o milho, batata, mandioca, trigo e arroz.

##### 3.1.1 Amido de mandioca

O cultivo de Mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz), originária do continente americano, foi distribuído em todo o mundo através de comerciantes portugueses, antes de 1600, que o levaram para o continente africano e depois para a África Oriental e Ásia (DEMIATE; KOTOVICZ, 2011). Atualmente o Brasil é o terceiro maior produtor de Mandioca no mundo e o principal produto na América do Sul tendo o maior volume de produção nos estados do Pará, Bahia e Paraná (TABELA 1), com impacto direto na alimentação humana e animal por ser considerado um alimento básico em grande parte das comunidades rurais do país (BRAZILIAN INSTITUTE OF GEOGRAPHY AND STATISTICS, 2010; DEMIATE; KOTOVICZ, 2011).



A produção anual mundial de mandioca aumentou em cerca de 100 milhões de toneladas. A mandioca é considerada pelos países em desenvolvimento o futuro da segurança alimentar, pois cerca de 500 milhões de pessoas são dependentes desse alimento para o consumo do índice nutricional necessário de carboidratos diários (MORGAN; CHOCT, 2016).

**TABELA 1** – ESTADOS BRASILEIROS QUE EXTRAEM GRANDES QUANTIDADES DE AMIDO DA RAÍZ DE MANDIOCA.

ESTADOS	2018	
	Produção (t)	% TOTAL
Rio Grande do Norte	94,844	9,39%
Amapá	148,859	14,71%
Pernambuco	178,820	17,7%
Piauí	202,238	20,0%
Santa Catarina	395,875	38,19%
TOTAL	1.010,427	100%

FONTE – CONAB (2018)

A mandioca apresenta alta quantidade de amido facilmente digerível, contendo 17% de amilose e 83% de amilopectina, enquanto outras espécies de amido, como por exemplo o amido de milho, apresenta cerca de 28% de amilose e 72% de amilopectina. Além das suas boas propriedades alimentares e nutricionais, atuando como prebiótico e no metabolismo lipídico, suas características físico-químicas são importantes para a indústria de alimentos, devido à sua produção de géis com elevada viscosidade e transparência, sem interferir em aspectos visuais dos alimentos em que é aplicado. O amido de mandioca apresenta baixa tendência de retrogradação e baixa temperatura de gelatinização (CHUNG; LIU; HOOVER, 2009; DEMIATE; KOTOVICZ, 2011).

### 3.1.2 Amido de batata

Dentre as principais culturas brasileiras, a batata (*Solanum tuberosum* L.) é uma das mais importantes, sendo responsável por 25.000 hectares para a produção e com 5.000 produtores, segundo a Associação Brasileira de Batata (ABBA). É cultivada anualmente em quase todos os países do mundo devido à sua fácil adaptação natural em diferentes solos e climas, como descrito por MA

et al., 2015). A produção mundial anual de batata gira em torno de 310 milhões de toneladas, destacando-se como grandes produtores a China, Rússia, Índia, Estados Unidos, Polônia e Ucrânia. O Brasil ocupa a 20ª posição, tendo um papel fundamental para o agronegócio brasileiro, principalmente nos estados de Minas Gerais (29%), São Paulo (25%) e Paraná (24%), responsáveis por cerca de 78% da produção nacional (ABBA, 2005).

Embora o cultivo da batata não esteja relacionado apenas ao consumo humano, é considerado o 4º alimento mais consumido no mundo, perdendo apenas para o arroz, trigo e milho. Devido as suas boas características nutritivas, é apontada como fonte de carboidratos, proteínas de alta qualidade, vitaminas (C, B6 e B3) e minerais (potássio, fósforo e magnésio), além da obtenção e produção de amido (KITA et al., 2014; SIMKOVÁ et al., 2013).

O teor de amido das batatas é altamente variável. Batatas frescas contém cerca de 60-80% de amido, sendo 70-80% de amilopectina e o restante amilose (ZEEMAN; KOSSMANN; SMITH, 2010).

Ao contrário dos amidos de cereais, o amido de batata tem características únicas, tais como a formação de pastas e gel com alta viscosidade, consistência e clareza (PARK et al., 2009). Segundo Noda et al. (2006), a alta viscosidade e transparência do gel de amido de batata são devidas à presença de fosfato. O teor de fosfato varia significativamente, de acordo com as cultivares e fatores ambientais.

### 3.1.3 Amido de milho

O milho, planta da espécie *Zea mays*, termo geralmente associado à semente, é amplamente consumido como alimento (OLIVEIRA et al., 2010). O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, totalizando 53,2 milhões de toneladas na safra 2009/2010. As regiões brasileiras produtoras de milho são: Centro-Oeste, Sudeste e Sul. O grão de milho é usado na produção de óleo, farinha, amido, margarina, xarope de glicose e flocos para cereais matinais (MAPA, 2013).

O milho é considerado uma importante fonte agrícola mundial devido as suas variadas aplicações, até mesmo, o seu uso como fonte de combustível, uso para extração de óleo, margarina, levedura e principalmente amido

(CARDOSO et al., 2010). O grão de milho varia em peso de 250 a 300mg, sendo composto por 72% de amido (base seca), além disso, minerais em pequenas quantidades como cloro, cálcio, sódio, iodo, manganês, ferro, zinco, selênio e cobre entre outros constituintes (PAES, 2006; COLLARES-QUEIROZ; CHANG, 2009).

Devido à alta concentração de amido do grão de milho, é a principal matéria-prima utilizada pelas indústrias de amido (HU et al., 2014). O amido de milho é uma matéria-prima barata, renovável e atende aos requisitos de estabilidade térmica e mínima interferência na fluidez e qualidade dos produtos (SABETZADEH; BAGHERI; MASOOMI, 2012). O amido de milho normal é reconhecido pela formação de géis consistentes, sendo bastante empregado em sopas desidratadas e molhos que requerem viscosidade a quente. No entanto, para produtos que precisam de armazenamento sob refrigeração, esse amido não é indicado devido à sua tendência a sinérese, consequência do fenômeno de retrogradação.

### 3.2 AMIDOS NÃO-CONVENCIONAIS

Segundo Garcia et al., (2014), existe um grande interesse em novas fontes de amidos com características capazes de suprir a necessidade mercadológica. Os amidos convencionais assim como os não modificados têm uso limitado na indústria. A investigação de amidos não-convencionais é necessária para que tenha alternativas industriais quanto a diferentes características que podem ser adicionadas a um produto. Um realce ou inibição das propriedades desejáveis ou não, alterações consistência, estabilidade, palatabilidade, gelificação e propriedades funcionais. Sabe-se que os maiores consumidores de amido, convencionais ou não, modificados ou não, são as indústrias de alimentos. Importantes funções são dadas aos amidos em produtores de papel, produtos químicos e têxteis.

O Brasil é um dos países tropicais que mais apresenta diversidade de espécies amiláceas que ainda não foram completamente investigadas e cuja características podem atender a demandas e suprir necessidades específicas de processos industriais. Portanto, o meio de obtenção e isolamento, assim como a caracterização granular e físico-químicas de novas fontes e espécies

de amidos, torna-se fundamental para melhorias em processos industriais. As pesquisas conduzidas sobre o teor e distribuição de amilose e amilopectina, conteúdo de outros componentes como lipídios, tamanho e forma dos grãos, características da polpa e térmicas são capazes de determinar o uso de amidos para os processos industriais (PERON, 2003).

Amido de milho, batata e mandioca são as principais culturas de amido comerciais ao redor do mundo, porém, entre outras fontes alternativas para a obtenção de amido estão as sementes de frutos (BARBI et al., 2018).

### 3.3 AMIDOS MODIFICADOS

Amidos modificados são descritos como aqueles que sofreram alterações em suas características originais. Modificações em amidos podem ser classificadas como químicas (oxidação, hidrólise ácida, cross-linking e esterificação), físicas, enzimáticas ou combinadas (Silva et al., 2006).

O uso de amidos modificados permite novas possibilidades e avanços na indústria de alimentos. Novas características de inchamento e viscosidade final da pasta, pureza e velocidade da hidratação são fatores cruciais na investigação da aplicação de amidos modificados (Silva et al., 2006). O conhecimento da composição de cada tipo de amido, assim como o controle da variação da concentração de amilose/amilopectina durante os períodos de safra/entressafra se configuram como controles essenciais na indústria de amidos modificados para obtenção de produtos com mínima variação em suas características viscoamilográficas (Brasil, 2005).

Amidos tratados com aquecimento na presença de reagentes ácidos ou alcalinos sofrem alterações de fragmentação no grânulo. O processo de oxidação produz grupos carboxilas. Esta modificação também pode causar alterações na coloração, gerando um amido branqueado. Os ácidos rompem as ligações de hidrogênio, o que gera um inchamento mais rápido dos grânulos. A composição química do amido, no que diz respeito a presença de sólidos solúveis, gorduras e proteínas interferem na captação de água do grânulo. Essas interferências retardam ou aceleram a hidratação do grânulo, alterando o desenvolvimento da viscosidade (Ma et al., 2008).

De forma geral, o amido é utilizado para alterar ou controlar diversas características dos alimentos, como textura, aparência, umidade, consistência além de melhorias na estabilidade e no processo produtivo. As diferentes modificações feitas permitem que seja usado para ligar ou desintegrar; expandir ou adensar; clarear ou tornar opaco; reter umidade ou inibi-la; produzir textura curta ou fibrosa; textura lisa ou rugosa; coberturas leves ou crocantes (Silva et al., 2006). Também pode servir tanto para estabilizar emulsões quanto para formar filmes resistentes ao óleo. O amido modificado ainda pode ser usado como auxiliar em processos na composição de embalagens (Henrique et al., 2008).

### 3.4 ESTRUTURA QUÍMICA E PROPRIEDADE DOS AMIDOS

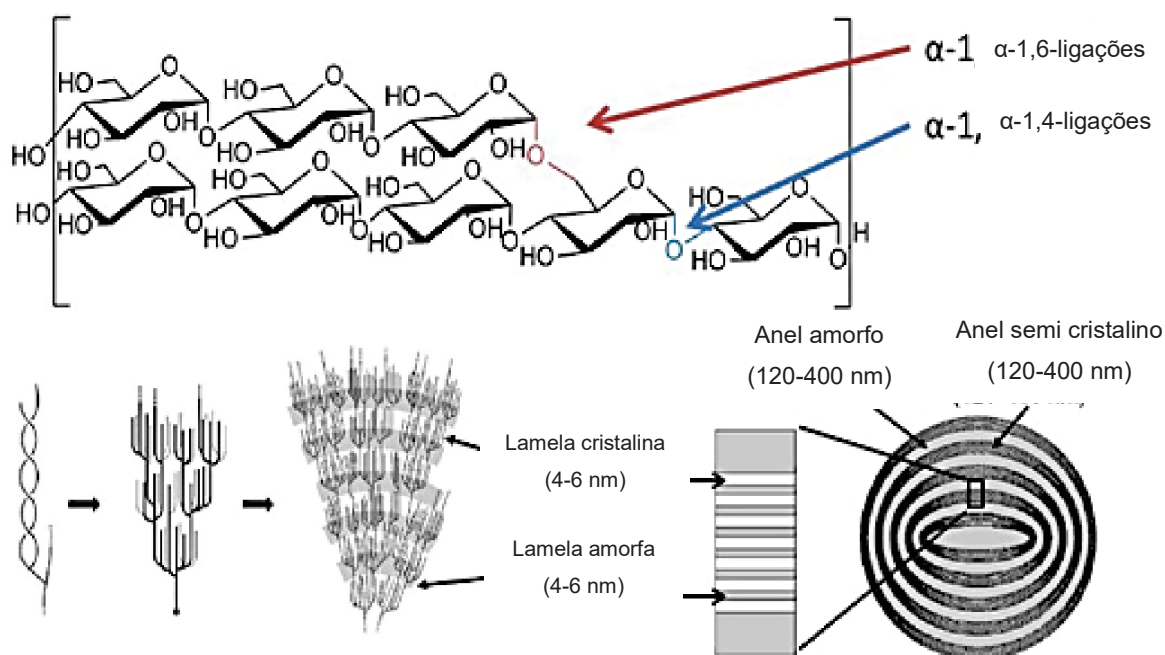
O amido é um polissacarídeo neutro descrito como o de maior reserva de carboidrato das plantas, estando presente em todas os tecidos das plantas como sementes, polpa, casca, raízes, galhos e tubérculos, (ELIASSON, 2004; PEREZ et al., 2016). Ocorre na forma de pequenos conglomerados individuais denominados grânulos, constituídos em sua base por dois polissacarídeos, amilose (essencialmente linear) e amilopectina (altamente ramificada). As estruturas de amilose e amilopectina encontram-se associadas entre si por ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxilas das unidades de glicose que estão unidas por ligações glicosídicas (ligações  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6 ligadas a unidades de D-glucose) (Denardin, C.C., & Silva L.P. da., 2009).

De acordo com a procedência botânica e etapa de desenvolvimento da planta, os grânulos de amidos podem assumir diferentes tamanhos e formas (PEREZ et al., 2009). Em geral os grânulos de amidos têm seu diâmetro em torno de 2 a 100 $\mu$ m, mostrando formas regulares e irregulares. Além disso, a origem dos grânulos pode ser atribuída ao tamanho, forma e à posição do hilo (ponto de crescimento inicial do grânulo) sendo este, o responsável pela atribuição da organização estrutural alternada.

A região cristalina dos grânulos de amido é composta por cadeias de amilopectina, e configurada alternadamente por regiões amorfas, estas, compostas por amilose, disposta na FIGURA 1 de Neil & Field (2015). Segundo Dardardin & Silva, 2009, o agrupamento das cadeias de amilopectina

é feita em pacotes de dupla hélice, enquanto Billiaderis (1991) mostra que a estrutura granular do amido só é estabilizada pela existência de regiões cristalinas. Estas também são capazes de regular o comportamento característico do amido quando eles estão em presença de água, conferindo resistência à atividade enzimática ou modificações químicas.

**FIGURA 1** - REGIÕES CRISTALINAS E AMORFAS PRESENTES EM GRÂNULOS DE AMIDO



FONTE: NEIL & FIELD (2015)

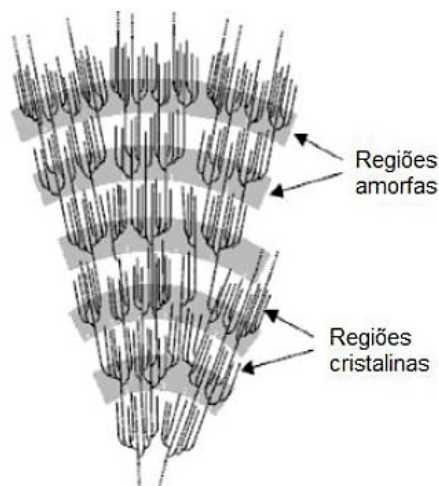
Nas áreas cristalinas existem regiões amorfas, FIGURA 2, nas quais as moléculas não têm orientação estabelecida, por este motivo considera-se que as regiões cristalinas conservam a estrutura granular e regulam a função em presença de água conferindo resistência às agressões enzimáticas ou químicas. Já as regiões amorfas são menos fechadas, o que facilita a penetração de água para a formação de ligações de hidrogênio com grupos hidroxila livres das moléculas de amido (LIU, 2005).

Os amidos produzidos industrialmente apresentam outras substâncias, mesmo que em pequenas quantidades, como lipídeos, proteínas, cinzas e sais minerais. Podem ser empregados na indústria de alimentos como estabilizantes de emulsões, revestimentos de frutas e embalagens bioativas, agente espessante e de enchimento, visando aumentar ou diminuir a



viscosidade de alguns produtos, agindo como ingrediente funcional em molhos, pudins e embutidos cárneos (PEREZ et al., 2009).

**FIGURA 2** – VISÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRUTURA DO GRÂNULO DE AMIDO



FONTE: Adaptado de LSBU (2016)

O fator determinante para os benefícios característicos do amido e das substâncias por ele carregadas está relacionado ao método de extração devido às alterações causadas na composição centesimal do amido. Sabe-se que quanto menor o teor de substâncias como lipídeos, proteínas e fibras, melhor a qualidade do amido e maior o rendimento do mesmo, sendo essa relação descrita como inversamente proporcional. A presença de proteínas nos amidos de raízes e tubérculos tem pouca ou nenhuma influência nas suas propriedades funcionais. Em contrapartida, lipídios detectados em amidos de cereais são responsáveis pela fixação de cor e desenvolvimento de aromas (Denardin et al., 2009). Já em amidos de tuberosas a presença de lipídios é extremamente baixa, fazendo, portanto, destes amidos os mais neutros e menos sujeitos à complexação (HOOVER, 2001).

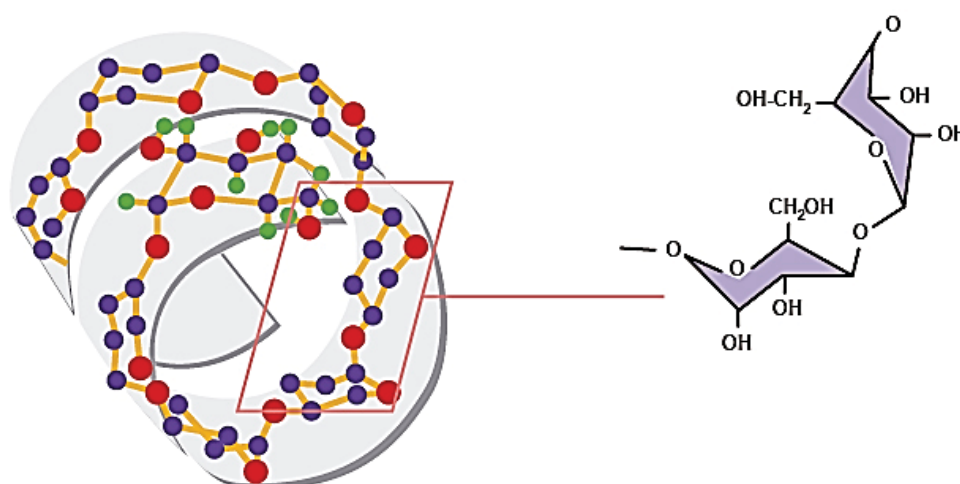
#### 3.4.1 Amilose e amilopectina

As moléculas de amilose e amilopectina constituem 98-99% do grânulo de amido em base seca. Existem diferenças causadas por origem das espécies botânicas que impactam as funcionalidades e características das pastas formadas a partir desses amidos. Segundo Montense et al., 2008 e Tester et

al., 2004, alguns amidos são caracterizados pela média do teor de amilose. Designados por “cerosos” aqueles que apresentarem quantidades inferiores de 15% de amilose, como a cevada e arroz. Em comparação aos amidos “cerosos”, existem os amidos “comuns”, os quais possuem uma quantidade média de 20-35% de amilose. Além disso, é possível obter um amido extremamente rico em amilose, onde o seu conteúdo chega até 40%.

O teor de amilose é um dos fatores que contribuem na definição das características do amido. Os amidos “comuns” são capazes de produzir um gel consistente e amplamente utilizado nas indústrias produtoras de sopas e molhos desidratados (devido a necessidade de viscosidade quando o alimento está quente). Porém, não são indicados na produção de alimentos refrigerados por ocasionarem a exsudação de água ou sinérese, um fenômeno parcial da retrogradação (WEBER; QUEIROZ; CHANG, 2009). O amido de milho possui cerca de 25 a 28% de amilose, enquanto algumas variedades de mandioca possuem cerca de 17% (WEBER; COLLARES-QUEIROZ; CHANG, 2009; XIE et al., 2014). O amido de milho descrito como “comum”, é aquele que apresenta a estabilidade esperada para temperaturas amenas, devido à baixa quantidade de amilose. Estes tendem a formar géis fracos, viscosos no cozimento, claros e coesivos, enquanto os amidos denominados como “*high-amilose*” formam gel fluído devido ao alto conteúdo de amilose (PARKER; RING, 2001).

A amilose é caracterizada como uma molécula essencialmente linear, com presença de  $\alpha$ -D-glucopiranosas unidas por ligações  $\alpha$ -1,4 glicosídicas. Essas moléculas têm ligações capazes de manter cerca de 350 a 1000 unidades de glicoses unidas à sua estrutura, com massa molecular variável de 136.000 a  $3,5 \times 10^6$  (ELIASSON, 2004; LIU, 2005). Por essas características, a molécula de amilose constitui a parte amorfa e insolúvel dos grânulos, mesmo apresentando uma estrutura linear. Conforme a FIGURA 3, a molécula de amilose tem uma conformação helicoidal ou em espiral, mantendo o interior da hélice os átomos de hidrogênio, conferem-lhe características de hidrofobicidade, o que permite agregação e formação de complexos com ácidos graxos livres, álcoois e iodo. Na porção exterior da hélice, encontram-se os grupos hidroxilas (ELIASSON, 2004).

**FIGURA 3 – REPRESENTAÇÃO DA ESTRUTURA HELICOIDAL DA AMILOSE**

FONTE: CEREDA; VILPOUX (2003)

Diferentemente da amilose, a amilopectina é a macromolécula mais abundante nos diferentes tipos de amido (75%). É um polímero maior e extremamente ramificado. Essa molécula consiste em resíduos  $\alpha$ -D-glucopirranose unidas por cadeias lineares mais curtas de ligações  $\alpha$ -1,4-glicosídicas contendo 10 a 60 unidades de glicose e cadeias laterais de ligação  $\alpha$ -1,6 com 15 a 45 unidades de glicose (VAN DER MAAREL et al., 2002).

Esquemáticamente, como apresentado na estrutura geral da molécula (FIGURA 1), a amilopectina consiste de uma cadeia principal/específica (Cadeia C) que possui como função transportar o grupo redutor (CEREDA, 2001). As ramificações ocorrem por conta das ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,6. Assim como a amilose, a amilopectina possui estrutura descrita em dupla hélice com formato esférico, muito estável em água, podendo apresentar de 10 a 500 mil unidades de glicose (ZAMBRANO; CAMARGO; TAVARES, 2001).

As cadeias laterais pertencentes às moléculas de amilopectina são lineares e curtas, porém as suas ramificações são dispostas em dupla hélice. Essa conformação amilopectina confere estruturas compactas apesar do alto grau de ramificação, conferindo ao grânulo as suas regiões cristalinas. Essas regiões oferecem resistência a hidrólise ácida e enzimática aos grânulos (PEREZ et al., 2009).

Dentro do grânulo de amido existe uma alternância entre as regiões cristalinas e amorfas, com a tendência das cadeias de amilopectina a se

orientarem de maneira radial. À medida que o raio do grânulo aumenta, ocorre necessariamente, o aumento do número de ramificações, as quais possuem a função de preencher os espaços vazios, formando as regiões de alternância cristalina (BERTOFT, 2004).

Quando submetida ao aquecimento, a amilopectina é capaz de absorver água causando assim, a expansão do grânulo de amido. É possível caracterizar os grânulos de amidos que são ricos em cadeias longas de amilopectina como aqueles mais fáceis de se hidratarem em água. Outra característica da amilopectina é que a mesma não tem tendência a recristalização em baixas temperaturas, e, portanto, possuem elevado poder de retenção de água (PARKER; RING, 2001).

### 3.4.2 Gelatinização

A gelatinização do amido ocorre quando estes são submetidos a uma temperatura elevada em presença de água, fazendo com que se tenha a formação de um gel. Isso ocorre devido a alta insolubilidade do amido em água como consequência de suas fortes ligações de hidrogênio existentes entre as cadeias de amilose e amilopectina. Em outras palavras, o aquecimento em água induz a dissociação da amilose e a repartição do grânulo, o que promove a gelatinização. A presença de D-glicose e grupos hidroxilas, compostos tais que compõem o grânulo de amido, são ditos hidrofílicos, facilitando o inchaço (PENG; ZHONGDONG; KENNEDY, 2007). A TABELA 2 descreve as faixas de temperaturas de gelatinização para amidos comuns, como o amido de milho, arroz e batata através da Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).

Segundo Eliasson, Gudmundund (2006) e Lagarrigue et al., (2008), a temperatura de gelatinização ocorre para a maioria dos amidos em uma faixa de temperatura entre 60°C e 70°C. O conteúdo de amilose e amilopectina, a taxa de cisalhamento, o binômio Tempo X Temperatura, pH e a presença de outros constituintes, são fatores que interferem no processo de gelatinização do amido (MILES et al., 1985).

**TABELA 2** – PICOS DE TEMPERATURA DE GELATINIZAÇÃO DE VÁRIOS TIPOS DE AMIDO OBTIDAS POR DSC

<b>Fonte</b>	<b>Pico de temperatura (Tp, °C)</b>
Milho	62 – 72
Milho ceroso	63 – 72
Arroz	61 – 77
Trigo	52 – 63
Mandioca	58 – 70
Batata	56 – 66
Pinhão	50 – 57
Inhame	66 – 75

FONTE – BOBBIO; BOBBIO, 2003; COSTA ET AL., 2013; JIANG ET AL (2012)

### 3.4.3 Retrogradação

O processo de retrogradação do amido é descrito como uma reorganização parcial ou uma recristalização das moléculas de amilose e amilopectina. Esse fenômeno ocorre em conjunto com a gelatinização após um longo período de armazenamento ou resfriamento. A retrogradação interfere diretamente na qualidade sensorial do alimento em que o amido foi aplicado. É capaz de causar prejuízos com a perda de umidade e consequente endurecimento do produto, além de tornar o carboidrato mais resistente às enzimas digestivas presentes no organismo humano. O controle desse processo possui grande importância científica e na indústria de alimentos (JAILLAIS et al., 2006; MUNHOZ, WEBER; CHANG, 2004; PATEL; SEETHARAMAN, 2010). A retrogradação sofre influência direta do tempo, umidade e temperatura. Assim como na gelatinização, este processo permite com que diferentes características em alimentos ocorram perfeitamente quando desejados. Parte das moléculas de água são expelidas de uma rede de gel, gerando o processo de sinérese, o qual ocorre devido à formação de fortes ligações entre as moléculas de amilose que são rearranjadas, conferindo-as alta estabilidade, em parte também pelas ligações de hidrogênios geradas (KOKSEL et al., 2008).

### 3.4.4 Cristalinidade do amido

A cristalinidade dos grânulos de amido é um dos aspectos fundamentais para a designação do índice de cristalinidade do grânulo. Um grande número de informações básicas é concentrado na análise, como a determinação da refração de luz, densidade e espaçamento para as moléculas de água.

A cristalinidade relativa do amido é determinada pela presença de ramificações e pela formação de dupla hélice da molécula de amilopectina. Quando temos a associação paralela das cadeias lineares de amilose e das cadeias ramificadas de amilopectinas mantidas por interações de hidrogênio, o resultado é a formação de regiões cristalinas ou micelares (HOOVER, 2001). As regiões amorfas do grânulo são constituídas pela amilose, sendo a amilopectina responsável pela cristalinidade do mesmo (RIBEIRO; SERAVALLI, 2003).

Segundo Eliasson (2004), a origem dos grânulos de amido influenciará a cristalinidade do mesmo, apresentando uma característica particular. Sendo assim a cristalinidade pode ser estudada de acordo com os padrões para os tipos A, B (FIGURA 4) e tipo C, específicos de difração de raio-X onde:

#### **Tipo A:**

A estrutura padrão para o tipo A ocorre para a maioria dos cereais (Milho, arroz, trigo e aveia). É descrita como uma unidade monocíclica altamente condensada e cristalina (OATES, 1997; ELIASSON, 2004). São mais densos e contém menos espaço para moléculas de água. Possuem uma maior suscetibilidade a hidrólise devido a presença de poros superficiais que podem ser alargados pelas enzimas facilitando a sua ação no interior do grânulo (LI et al., 2014). Apresentam picos de maior intensidade de refração para os ângulos a 2 a 15, 17, 18 e 23  $2\theta$ .

#### **Tipo B:**

A cristalinidade do tipo B ocorre para tubérculos, grãos de arroz e de milho com alta concentração de amilose e também amidos retrogradados. Contém uma maior quantidade de água, podendo aprisionar cerca de quatro vezes mais

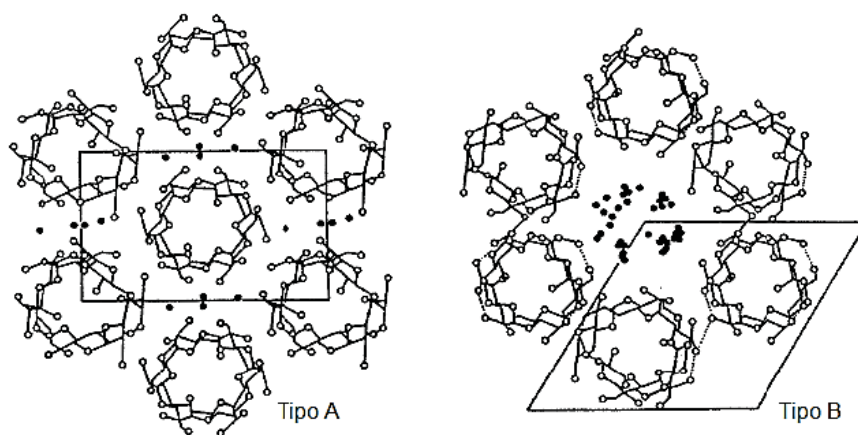


moléculas de água em sua estrutura, comparativamente a estrutura do tipo A. Essa água encontra-se fortemente ligada às duplas hélices existentes (OATES, 1997; ELIASSON, 2004). Os picos de refração mais intensos para os ângulos a 2 a 5, 6, 17, 22 e 23  $2\theta$ ;

### Tipo C:

Caracterizada por uma estrutura cristalina intermediária, o tipo C de cristalinidade mistura as propriedades dos padrões tipo A e B, característico de raízes e sementes (ELIASSON 2004).

**FIGURA 4** - REPRESENTAÇÃO ESTRUTURAL DOS CRISTAIS DO TIPO A E B EM AMIDOS.



FONTE: Eliasson, (2004).

Na FIGURA 4 os pequenos círculos em preto representam as moléculas de água aprisionadas na estrutura dos grânulos.

### 3.5 POTENCIAL TECNOLÓGICO E APLICAÇÃO DOS AMIDOS

O amido contribui para diretamente nas propriedades de muitos alimentos tendo uso como espessante, estabilizante, agente de formação de massa e gelificante além de auxiliar na retenção de água. Apesar disso, o amido não apresenta uma resistência alta a alguns processamentos que exigem cisalhamento, variação térmica e até a decomposição. Esses fatores devem ser levados em consideração para especificar o potencial e aplicações desses amidos na indústria de alimento.

As modificações do amido por uso de ácido e álcali que envolvem a alteração das características físicas e química do amido nativo tem como função melhorar suas características funcionais e nutricionais. Essas modificações tem por caráter adaptar o amido a aplicações específicas em alimentos.

A TABELA 3 apresenta algumas aplicações dos amidos modificados quimicamente. As análises instrumentais de calorimetria diferencial, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a análise de viscosidade através do RVA (Rapid Visco-Analyzer) são capazes de verificar as modificações no comportamento térmico, morfológico e de formação de pasta do amido atuando na melhor definição do potencial tecnológico para esses amidos.

**TABELA 3** – APLICAÇÕES TECNOLÓGICAS DE AMIDOS NAS INDUSTRIAS DE ALIMENTOS

Aplicações
Uso em alimentos instantâneos
Útil em confeitaria, massas e revestimentos alimentícios
Usado como materiais de revestimento para vários alimentos, formação de filmes e agentes substitutos de gordura em panificação
Utilizado em alimentos refrigerados e congelados como estabilizantes de emulsões e encapsulamento
Usado como agente de viscosidade em sopas, molhos, padaria e laticínios
Usado em alimentos enlatados, refrigerados e congelados

Fonte: Singh, J., L and McCarthy., O. J. (2007). Fatores que influenciam as propriedades físico-químicas, morfológicas e reológicas de amidos modificados e suas aplicações em alimentos – Uma revisão. Food Hydrocolloids 21, 1 – 22, com permissão da Elsevier.

### 3.6 EXTRAÇÕES DE AMIDO

Segundo Yuliana, Huynh, Ho, Truong, & Ju (2012), o amido, é um importante polissacarídeo vegetal, por estar altamente disponível na natureza e apresentar um custo relativamente baixo. Suas propriedades físico-químicas apreciáveis (biocompatibilidade, não toxicidade e biodegradabilidade) facilitam sua aplicação não só na indústria alimentícia, mas na indústria farmacêutica, biomédica, polímeros e têxteis (Afolabi, Olu-Owolabi, Adebawale, Lawal, & Akintayo, 2012).

O isolamento é a técnica mais comum para obtenção de amido puro de fontes vegetais, envolvendo etapas de moagem, separação de fibras, suspensão do amido em meio ácido, alcalino ou neutro, centrifugação, purificação, desidratação e secagem (Agama-Acevedo et al., 2014; Santos et al. 2013). A maioria dos métodos de isolamento são capazes de produzir interferências nas propriedades do material obtido, sendo estas desejáveis ou não. Alguns tipos de amido requerem etapas adicionais de extração, o que contribui para a existência de inúmeros métodos para isolamento de amido. Assim, investigar o melhor procedimento de isolamento de amido para cada material é crucial. Através da identificação da técnica de extração mais adequada em termos de rendimento, propriedades e pureza é possível ter um direcionamento maior para o uso a ser dado para o amido obtido (Correia & Beiré-da-Costa, 2012).

Métodos alcalinos, ácidos ou enzimáticos auxiliam na obtenção de amido quando este está associado a proteínas e fibras. Belhadi, Djabali, Souilah, Yousfi e Nadjemi (2013) verificaram que o isolamento de amido do sorgo pelo método alcalino e o método ácido proporcionam maior rendimento de extração e amido mais puro, respectivamente. No caso da castanha portuguesa, o método alcalino fornece rendimento superior de extração de amido quando comparado ao método enzimático (Correia & Beirão-da-Costa, 2012). As propriedades do amido de ervilha dependem também do método de isolamento empregado (moagem a seco e extração ácida, alcalina ou enzimática). O amido de ervilha isolado pelo método alcalino tem maior pico de viscosidade e maiores valores para  $T_p$ ,  $T_c$  e entalpia endotérmica do que o amido isolado por outros métodos (Sun, Chu, Xiong, & Si, 2015). Palacios-Fonseca et al. (2013) observaram que o método (ácido ou alcalino) usado para isolar o amido do milho é capaz de influenciar o teor de amilose, a cristalinidade e a entalpia dos grânulos de amido.

### 3.6.1 Extração ácida

O processo de extração de amido por meio ácido é amplamente utilizado em indústrias de processamento de amido. A aplicação de ácido para extração tem por objetivo trazer melhorias em propriedades desejáveis,

permitindo uma maior concentração de sólidos e uma rápida gelatinização, produzindo gomas e geleias com uma melhor textura e flexibilidade (OGUNSAWO et al., 2005). Os ácidos comumente utilizados são ácido ascórbico, ácido esteárico e ácido láctico.

Durante o tratamento com ácido, a amilose é preferencialmente e rapidamente degradada que a amilopectina, com a ação do ácido na região amorfa. Como resultado, há um aumento relativo da amilose como uma fração linear (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). A principal característica dos amidos extraídos por ácidos é a baixa viscosidade a quente. Pastas com baixa viscosidade podem ser obtidas durante o cozimento e géis firmes durante o resfriamento (CEREDA et al., 2003).

### 3.6.2 Extração alcalina

Maniglia et al., (2017) isolaram o amido da farinha de mesocarpo de babaçu por meio de maceração em pH alcalino por uso de hidróxido de sódio (NaOH). Essa metodologia foi capaz de fornecer um amido com composição química e características funcionais distintas e pouco alteradas de amidos obtidos com o uso de extração com água. O uso da metodologia com pH alcalino não é capaz de remover os compostos fenólicos, conservando a capacidade antioxidante do material, tornando-o interessante para a aplicação em filmes bioativos. O método alcalino produziu grânulos de amido com baixo teor de proteína e gordura além de promover o aumento da entalpia.

### 3.6.3 Extração aquosa

O processo de extração aquosa descrita por Hornung et al. (2017) para o isolamento do amido consiste na aplicação de água destilada na proporção de (1:2). Essa metodologia fornece um amido com uma composição química e características funcionais similares as da farinha de semente de nêspera, onde o grânulo de amido apresenta interferências em sua superfície. É levado em consideração que a água não tem capacidade de fazer grandes alterações na composição, mantendo o teor de proteína e gordura correspondentes a da matriz utilizada.

### 3.7 NÊSPERA

Nêspera, fruto pertencente a subfamília Maloideae e da família Rosaceae, com o nome científico, *Eriobotrya japonica* Lindl., é nativa da Ásia, mais precisamente da China (FIGURA 5). Apesar do seu nome científico ser pouco difundido, é popularmente conhecida como ameixa-amarela, devido as suas raízes europeias pertencentes à mesma família que a ameixa comum ou ameixa europeia (*Prunus domestica* L.). Descrita como uma fruta do tipo Pomo, assim como a Maçã e a Pêra, a nêspera é amplamente difundida ao redor do globo terrestre. Possui características frutos subtropicais devido ao seu fácil desenvolvimento em regiões com temperaturas médias anuais pouco acima de 15°C. A ameixa-amarela, com descendência asiática, é bastante cultivada comercialmente em mais de 20 países como, Estados Unidos, Brasil, Canadá, China e alguns países da União Europeia. A nêspera apresenta um alto valor econômico na China. Sua época de colheita que compreende entre o final de abril e meados de junho supre uma lacuna importante no mercado anual de frutas frescas (TIAN; QIN; LI, 2011).

**FIGURA 5 – FRUTOS DE NÊSPERA MADUROS**



FONTE: O autor (2018).

A distribuição das árvores nespereiras se dá ao longo do território brasileiro, ocorrendo com maior incidência nas regiões Sul e Sudeste devido a melhor adaptação ao clima ameno. A fruta *Eryobotrya japonica* Lindl, despertou grande interesse econômico, atingindo um marco de 200 mil plantas no ano de 1985 na região Leste e Norte do estado de São Paulo (nas cidades de Mogi das Cruzes e Atibaia). No ano de 2016, o estado de São Paulo já produzia cerca de 3.700.000 caixas de frutos ao ano. O município de Mogi das

Cruzes respondia por 70% dessas plantas com uma produção de dois milhões de caixas ao ano (PIO et al., 2008).

Mesmo com a grande difusão no território brasileiro, Ojima et al., (2007) aponta que na década passada (1997 a 2010) ocorreu um decréscimo na entrada de frutos de nêspera no mercado nacional. Isso significa que a demanda por esse produto sofreu uma repressão capaz de gerar retração da cultura nas regiões mais tradicionais e produtoras do país.

Na região sul do Brasil é possível encontrar plantações de árvores nespereiras, em pequenas cidades como Prudentópolis, São João do Triunfo, Quatro Barras e Campo Mourão. É possível encontra-las também em áreas urbanas das grandes Metrópoles nacionais, como Curitiba, Florianópolis e Porto Alegre, presente em parques, jardins e nas imediações de ruas (INSTITUTO HORUS, 2016).

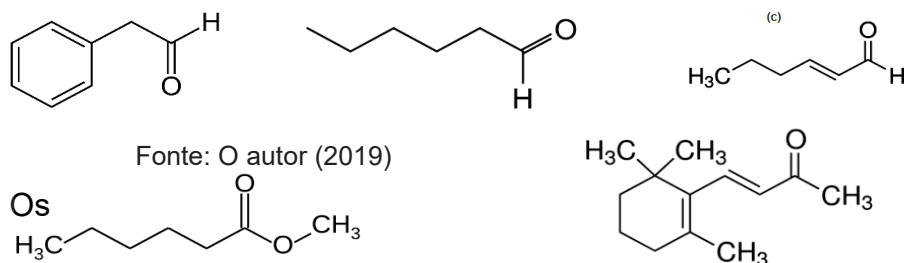
A árvore nespereira é considerada perene e de fácil adaptação, tanto às temperaturas amenas quanto quentes. Possui preferência por solos profundos e ricos em matéria orgânica e com muita disponibilidade de água. Caracterizada por um médio porte, chegando a alcançar 8 ou até 10 metros de altura, com folhas alongadas e com uma coloração verde-escura, além de possuir uma copa com formato arredondado e bastante densa (De Almeida Lopes et al., 2018).

As frutas de nespereira são ovais com um formato levemente alongados, com diâmetros que variam de 3 a 6 cm, possuindo uma casca aveludada e macia de cor amarelo alaranjada quando no estado maduro. O fruto, rico em sais minerais, vitaminas A e C, é consumido tanto in natura quanto em forma de geleias, compotas e licores. Possui também propriedades diuréticas. A colheita se estende de março a setembro, sendo que o pico de produção ocorre em julho. O fruto é atraente, sua polpa é carnosa e de sabor doce-acidulado, é suculenta e possui coloração que varia de amarela a alaranjada, o que agrada a muitas pessoas (TIAN; QIN; LI, 2011).

A fruta apresenta aroma doce e característico e isto pode estar relacionado a presença de compostos aromáticos (FIGURA 6), como o fenilacetaldéido (A), hexanal (B), ácido (E)-2-hexenal (C), ácido hexanóico (D) e  $\beta$ -ionona (E) (TIAN; QIN; LI, 2011). A casca é fina e pode ser facilmente

puxada quando a fruta está madura. A nêspira é comparada à maçã em muitos aspectos, como a presença de alto teor de açúcar, acidez e pectina.

**FIGURA 6** - COMPOSTOS AROMÁTICOS PRESENTE NA NÊSPERA



Os componentes presentes na fruta inteira (casca, polpa e semente) de nêspira estão apresentados na TABELA 4.

**TABELA 4** – COMPONENTES DO FRUTO DE NÊSPERA (equivalente a 100 g do fruto)

Componentes	Conteúdo
Água	86.5 – 88.2g
Valor energético	47 – 168 kcal
Carboidrato	9.6 – 37.3 g
Proteínas	0.43 – 1.4 g
Gorduras totais	0.20 – 0.70 g
Cinzas	0.40 – 0.50 g
Cálcio	16 – 70 mg
Ferro	0.28 – 1.4 mg
Magnésio	13 mg
Fósforo	20 – 126 mg
Potássio	266 – 1216 mg
Sódio	1 mg
Vitamina C	1.0 – 3.0 mg
Vitamina A	1528 – 2340 IU
Carotenoides totais	196 – 3020 µg
Caroteno	559 µg
Fenólicos totais	33.6 mg
Flavonoides totais	24.3 mg

FONTE: PAREEK et al., (2014)

Em frutos maduros de nêspira encontra-se parte dos nutrientes essenciais ao benefício humano, como proteínas, minerais, vitaminas, além de

ativos fitoquímicos como flavonóides, vitamina C e carotenoides (XU; CHEN, 2011). É sabido que tais fitoquímicos apresentam capacidade antioxidante e desta forma agem na eliminação de radicais livres. Estes por sua vez são responsáveis pela oxidação, e tendem a reduzir doenças degenerativas, como câncer, artrite, arteriosclerose, doenças cardíacas, inflamação, disfunção cerebral e envelhecimento precoce (HALLIWELL, 1996; EMBUSCADO, 2015).

A principal função da exploração econômica de nêspira é a produção de seus frutos, os quais são consumidos *in natura* ou utilizados para confecção de compotas e geleias. Suas folhas também são usadas em tratamento de doenças de pele, diabetes, bronquite crônica, tosse, expectoração, úlceras e cancro (FERRERES et al., 2009).

Cada fruta possui de 3 a 5 sementes de cor marrom e o seu peso é em torno de 1 a 3,6 gramas, correspondendo de 16 a 19% do total do fruto, sendo que aproximadamente 20% a 22% da semente é amido.

O amido é a principal fonte de carboidratos na dieta humana, além de possuir um importante papel nutricional e tecnológico na indústria alimentícia. Tem um uso alternativo na indústria farmacêutica, têxtil e produção de fertilizantes e papéis (ALBANO, FRANCO, & TELIS, 2014). O amido derivado da semente de nêspira pode ser considerado uma fonte alternativa representativa para a indústria de alimentos, além de contribuir contra o descarte de resíduos.

### 3.8 AMIDO DE NÊSPERA

Segundo Barbi et al., (2018), os amidos de semente de nêspira apresentam composição centesimal de acordo com a legislação brasileira para sua categoria de produto. Os grânulos de amido de nêspira são de forma geométrica oval e esférica, apresentando uma estrutura cristalina do tipo C, característico de amidos de sementes e leguminosas. Estudos termogravimétricos mostram que o amido proveniente da semente de nêspira apresenta uma faixa de estabilidade superior às fontes tradicionais de amido (Barbi et al., 2018).

Barbi et al. (2018), descreveu os compostos fenólicos e a capacidade antioxidante do amido extraído da semente de nêspira pela primeira vez. As



amostras verdes apresentaram maior teor de fenólicos totais e maior capacidade antioxidante frente as amostras maduras. Utilizando o UHPLC, sete compostos bioativos foram identificados e quantificados. Os principais compostos presentes no amido de nêspira foram: ácido 3,4-dihidrobencóico, ácido trans-cinâmico, ácido 5-cafeoilquínico, ácido p-cumárico, Kaempferol, rutina e Narigin.

### 3.9 COMPOSTOS BIOATIVOS

Existem benefícios vinculados ao consumo de compostos bioativos, como a redução do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, cânceres, distúrbios metabólicos, doenças neurodegenerativas e enfermidades inflamatórias. Esses fatores vêm atraindo atenção por parte de pesquisadores e indústrias alimentícias que buscam o desenvolvimento de alimentos ricos em compostos bioativos (MANACH, 2004).

Diversos compostos bioativos originam de vegetais (frutas e grãos), sendo esses de fácil incorporação e síntese na alimentação e organismo humano. Esses compostos agem impedindo a formação de radicais livres por meio do sequestro de moléculas de oxigênio reativas e quelantes de íons metálicos.

Os elementos bioativos englobam uma série de compostos que possuem grande variações estruturais e de função biológica, como os esteróis de origem vegetal, carotenoides e os indóis, além de compostos fenólicos. Segundo Horst e Lajolo, (2009), apesar da diferença, esses compostos possuem em comum um certo grau de atividade antioxidante, estimulação do sistema imune e até mesmo atividade antibacteriana e antiviral sendo indispensáveis pelo organismo humano, conferindo-lhes uma ação protetora na saúde humana quando ingeridas em proporções corretas a cada organismo.

#### 3.9.1 Antioxidantes

Antioxidantes são compostos naturais ou sintéticos que apresentam elevada estabilidade oxidativa e que têm capacidade para diminuir ou inibir

significativamente o processo oxidativo. A atividade antioxidante pode ser avaliada por meio de métodos químicos (*in vitro*) e testes celulares (*in vivo*) (HAMINIUK et al., 2012).

São usados dois mecanismos para explicar a ação dos antioxidantes para desativar os radicais livres. Método por transferência de um átomo de hidrogênio e outro por transferência de um elétron. Conhecido por HAT (*Hydrogen Atom Transfer*), o mecanismo por transferência de um átomo de hidrogênio mede a capacidade de um antioxidante em eliminar radicais livres doando hidrogênio. Pode ser citado como exemplo, o sistema de auto-oxidação  $\beta$ -caroteno/ácido linoleico. Já no mecanismo por transferência de um elétron, conhecido por SET (*Single Electron Transfer*) identifica a capacidade de um antioxidante em reduzir um composto (metais, grupamentos carbonila e radicais livres), por meio da transferência de um elétron, entre os ensaios deste mecanismo. Para essa metodologia pode ser citado o ensaio FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*, do português “Poder antioxidante de redução do ferro”). Os ensaios DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) e ABTS [2,2'-azino-bis(3-etil-benzolína-6-sulfonado)] ocorrem em ambos os mecanismos HAT e SET (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005).

### 3.10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a evolução das pesquisas ao longo dos anos em novas metodologias para a obtenção de amido, a extração utilizando vias ácidas, alcalinas e neutras surgem como alternativas promissoras ao alcance novas características. Entretanto, às limitações desses métodos, como quebra dos grânulos de amido e aumento na presença de grupos carboxilas, exigem estudos mais avançados para o aprimoramento dos métodos e consequentemente uma melhor definição do potencial amiláceo.

Neste sentido, visando a avaliação das metodologias alternativas (ácida, alcalina e neutra) para amidos não convencionais são capazes de alterar significativamente suas características destinando seu uso a obtenção de novos produtos e produção de novas tecnologias.

A matriz empregada nesse estudo foi escolhida pela disponibilidade, facilidade de obtenção e por possuírem características amiláceas desejáveis a

alterações e uso para novas tecnologias. Apesar de possuir alto conteúdo amiláceo, a semente de nêspira tem como destino principal o descarte. O potencial como uma nova fonte amilácea desse amido é apresentado devido a sua riqueza em compostos bioativos e uma boa capacidade de formação de pasta.

As metodologias utilizadas na extração foram escolhidas com base nas modificações esperadas na composição do amido. Os menores valores de lipídios, proteínas e cinzas no extrato amiláceo estão ligados a maior pureza obtidas por essas metodologias. Além disso, o uso do ácido ascórbico é descrito como uma metodologia verde, capaz de reduzir impactos no meio ambiente.

Assim, espera-se alterações benéficas as propriedades do extrato amiláceo obtidos por essas metodologias. As metodologias desenvolvidas neste trabalho visam produzir extratos amiláceos que apresentem potencial de aplicação na indústria de alimentos, servindo até para base de constituição de novas tecnologias.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATÉRIA-PRIMA - SEMENTES DE NÊSPERA

Foram utilizadas semente de nêspira (*Eriobotrya japonica* L.), extraídas de frutos obtidos da arborização urbana na cidade de Curitiba – PR em diversos estádios de maturação. Os frutos foram coletados na Universidade Federal do Paraná – Campus Politécnico (25°27'06.1" S 49°13'58.7" W) e suas imediações como a Rua Senador Batista de Oliveira (25°27'14.0" S 49°13'57.4" W).

As sementes (5 kg) foram secas em estufa com circulação de ar a 40°C até a obtenção de uma umidade estável. Em seguida, foram descascadas manualmente, sem causar perdas e prejuízos na composição e moídas em moinho de facas e peneiradas (60 mesh). Posteriormente, as amostras foram embaladas a vácuo em embalagens plásticas e armazenadas sob refrigeração à 5°C na forma de farinha em embalagens seladas a vácuo separadas por lotes de 1 kg.

Os amidos provenientes da semente de nêspira foram obtidos e isolados de três formas distintas, onde suas propriedades foram comparadas entre si e com a literatura para amidos não-convencionais.

### 4.2 MÉTODOS DE OBTENÇÃO DO EXTRATO AMILÁCEO

#### 4.2.1 Extração por via ácida (AC)

A extração por via ácida foi realizada conforme descrito por Maniglia et al., (2017) com modificações como demonstrado na FIGURA 7.

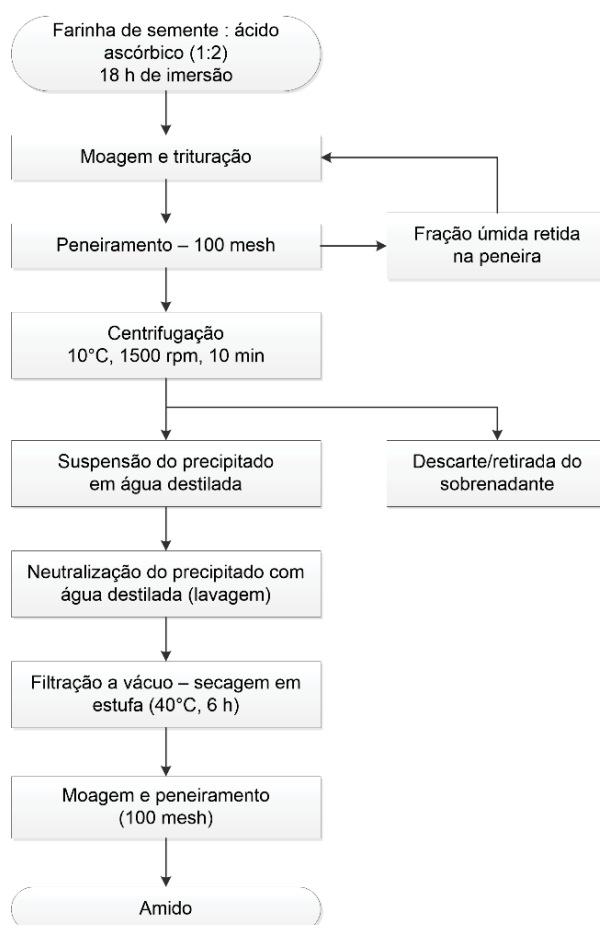
A farinha previamente moída foi encharcada em uma solução aquosa de Ácido Ascórbico 1% (M/V) na proporção de 1:2 (M/V) mantendo-se o pH em 4,0 com auxílio da solução aquosa de NaOH e uso do peagâmetro (ION pH500, Microprocessor pH, Ionlab Equip. Laboratoriais e Hospitalares Ltda.) para a regulagem. A proporção de 1:2 (M/V) é respeitada. O material permaneceu em descanso por 18 horas em ambiente refrigerado a 10°C com proteção contra luz realizada com o auxílio de papel alumínio.

Em seguida, a mistura passou por uma moagem em liquidificador industrial (3 minutos) e peneirada em malhas de aço de *mesh* 100 para a padronização da granulometria das partículas. O material úmido retido nas malhas foi novamente submetido a moagem até a obtenção da maior passagem possível de amostra na peneira de malha de 100 *mesh*.

O filtrado obtido foi então centrifugado a 1500 rpm, a 10°C por 10 minutos, o sobrenadante descartado e o amido na porção inferior (precipitado) foi novamente suspenso em água destilada. Este processo foi repetido até que a mistura de amido e água permaneceu com o pH neutro, 7,0.

Por fim, o amido obtido foi filtrado à vácuo com uso de uma bomba própria para esse procedimento e papel filtro qualitativo com abertura média de 14 µm. Em seguida o amido foi seco em estufa com circulação de ar a 40°C por 6 horas. Após, o amido passou por moagem e padronização em malha de 100 *mesh*, sendo armazenado em frascos escuros e em ambiente refrigerado a 10°C.

**FIGURA 7 - FLUXOGRAMA PARA OBTENÇÃO DE AMIDO POR VIA ÁCIDA (AC)**



FONTE: Maniglia et al., 2017 com modificações.

#### 4.2.2 Extração por via alcalina (AL)

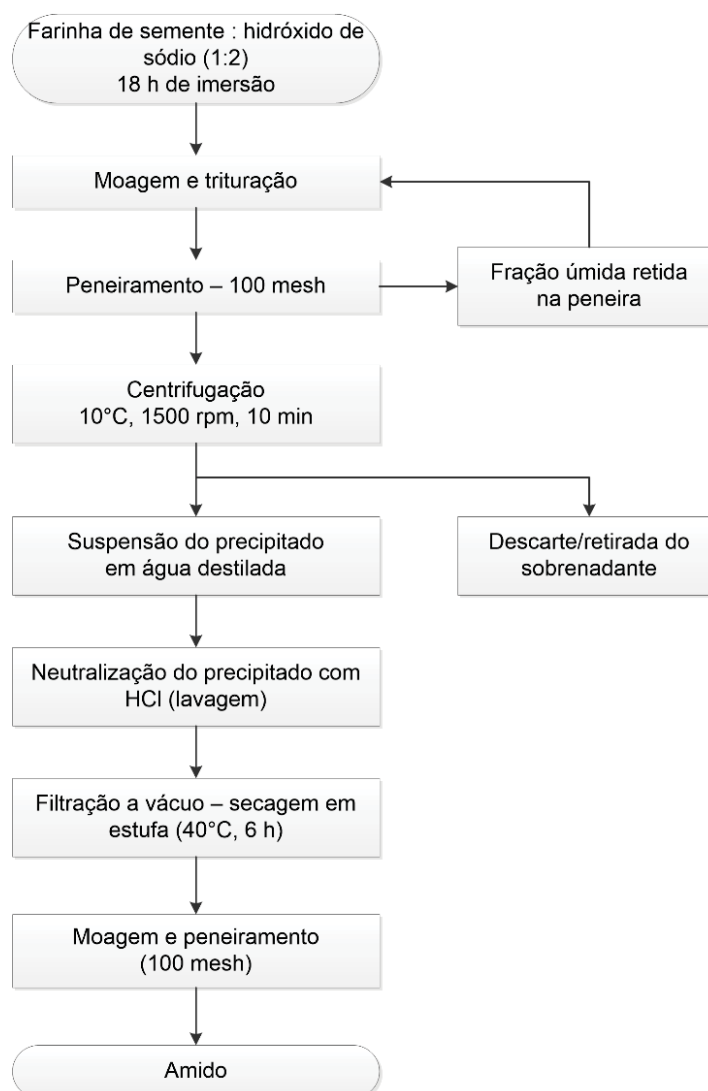
A extração alcalina utilizada foi realizada conforme descrito por Maniglia et al., (2016) com modificações propostas, como descrito na FIGURA 8.

A farinha foi encharcada em uma solução aquosa de NaOH 0,25% (W/V) na proporção de 1:2 (M/V), mantendo-se o pH 10,0 com auxílio da solução aquosa de ácido clorídrico (HCl) uso do peagâmetro (ION pH500, Microprocessor pH, Ionlab Equip. Laboratoriais e Hospitalares Ltda.). A proporção de 1:2 (M/V) é respeitada. O resultado da mistura foi deixado em armazenamento refrigerado a 5°C por 18 horas com proteção contra luz realizada com o auxílio de papel alumínio. Posteriormente aos procedimentos adotados, a solução de farinha e NaOH foi novamente processada durante 3 minutos por meio de um liquidificador industrial em potência máxima. O material moído foi peneirado com uso de uma peneira de 100 mesh a fim de padronizar a granulometria das partículas. O material retido nas peneiras passou por novo processamento e peneiramento até atingir a granulometria proposta.

A solução foi centrifugada a 1500 rpm em temperatura ambiente (25°C) por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e o precipitado novamente suspenso em água destilada. A solução resultante foi neutralizada com uso de HCl 1 M até atingir o pH 7,0 quando necessário.

Por fim, a fração sólida resultante do procedimento de centrifugação foi filtrada a vácuo com uso de papel filtro qualitativo com abertura média de 14 µm. Etapa considerada uma pré-secagem. A amostra foi seca em estufa com circulação de ar em uma temperatura de 40°C por 6 horas.

O amido seco foi moído e peneirado por uso de uma peneira com granulometria de 100 mesh. Por fim, armazenado em fracos âmbar a 5°C.

**FIGURA 8 - FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO DO AMIDO EM MEIO ALCALINO (AL)**

FONTE: Maniglia et al., 2016 com modificações.

#### 4.2.3 Extração por via neutra (AG)

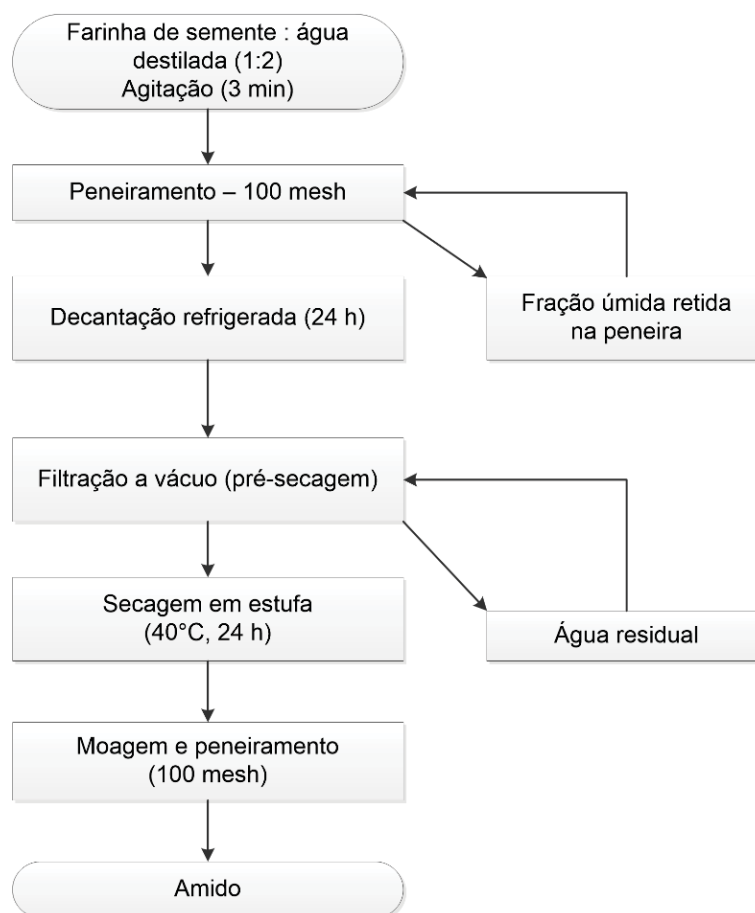
A metodologia de extração de amido por água foi realizada conforme descrito por Barbi et al., (2018) (FIGURA 9), brevemente descrita abaixo:

A farinha obtida das sementes secas foi imersa em água destilada na proporção de (1:2) (M/V) em pH 7,0, armazenada sob refrigeração a 5°C por aproximadamente 24 horas com proteção contra luz realizada com o auxílio de papel alumínio.

A amostra foi processada em liquidificador industrial durante 3 minutos, seguida de uma separação em peneira metálica de 100 mesh. Por fim, a solução foi filtrada a vácuo com uso de papel filtro qualitativo com abertura

média de 14  $\mu\text{m}$ . O sólido levado a estufa com circulação de ar a 40°C por 24 horas. A amostra seca obtida foi moída, peneirada para a passagem em malha de 100 mesh e armazenada em um vidro âmbar em ambiente a 5°C.

**FIGURA 9** - FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO DO AMIDO COM ÁGUA (AG)



FONTE: Barbi et al., 2018 com modificações.

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO DO AMIDO

#### 4.3.1 Cálculo de rendimento do amido

A avaliação e determinação do rendimento de amido das amostras ácida, alcalina e neutra foram realizadas de acordo com o método WANG & CHONG (2006) com algumas modificações.

Inicialmente foram pesadas 50 gramas de semente de nêspera sadias e previamente limpas, sem quaisquer indícios de contaminação e sem a presença do pericarpo. Subsequentemente foi realizado o preparo da amostra



como demonstrado anteriormente até a obtenção da farinha da semente de nêspira.

Após o processamento da farinha, foi realizada a extração seguindo as metodologias ácida, alcalina e neutra como descrito anteriormente. O sedimento obtido, previamente seco e homogeneizado em gral e pistilo é pesado para a determinação do rendimento de amido, utilizando a equação 1 (Eq.1):

**Eq.1:**

$$\text{Rendimento de amido} = \text{massa do amido obtido (g)} \times \frac{100}{\text{peso inicial da semente (g)}}$$

#### 4.3.2 Caracterização físico-química do extrato amiláceo

As análises de composição centesimal realizadas nos amidos obtidos foram, umidade por gravimetria a 105°C até a manutenção de peso constante, proteínas totais (método de Kjeldahl); lipídeos totais por meio de extração exaustiva em aparelho de Soxhlet; cinzas por incineração em mufla a 550°C; fibras por método enzimático utilizando um kit da Sigma-Aldrich e carboidratos por diferença. Todos os métodos descritos pela AOAC (2000) com os protocolos 930.15, 990.15, 920.39 e 942.05, respectivamente.

#### 4.3.3 Colorimetria

A análise de colorimetria foi realizada utilizando um colorímetro MiniScan XE (HunterLab, Riston, Virgínia, EUA), de acordo com o método desenvolvido pela Hunterlab (Hunterlab, 1997). Os parâmetros L\*, a\* e b\* do colorímetro foi calibrado com o uso de uma placa branca e preta. A análise foi realizada a 25°C com luz do dia. Cerca de 5g de cada amostra de amido foram dispostas em cápsulas, utilizadas para padronização da superfície de apoio. Foram feitas 6 repetições para cada amostra.

Para a determinação das cores através dos valores obtidos foi utilizado o modelo de coordenadas de escala de cor da CIELab (L, a, b). O parâmetro de luminosidade L\* (L\* = 0 preto e L\* = 100 branco), e os parâmetros de

cromacidade  $a^*$  (+  $a^*$  = vermelho e -  $a^*$  = verde) e  $b^*$  (+  $b^*$  = amarelo e -  $b^*$  = azul) foram verificados.

#### 4.3.4 Propriedades de inchamento do amido

##### 4.3.4.1 Higroscopicidade

A Higroscopicidade do amido obtido foi realizada segundo a metodologia de Cai e Corke (2000). Foram colocados 2g das amostras de amido em placas de Petri a 25°C, posteriormente dispostos em dessecadores de vidro contendo solução saturada de NaCl (umidade relativa de 75%). Após uma semana, a umidade higroscópica (higroscopicidade) foi pesada e expressa como g de umidade por 100 g de sólidos secos (g/ 100 g).

##### 4.3.4.2 Solubilidade

A solubilidade das amostras de amido em água fria foi avaliada com base no método proposto por Cano-Chaucab et al., (2005). Um volume de 10mL de água destilada foi medido e transferido para um béquer de 50mL. Uma pequena amostragem de amido (2,0 g) foi pesada e adicionada ao béquer contendo a água previamente mensurada, levada a agitação por 2 min. O material foi transferido para um tubo de centrífuga de 50mL e centrifugado a 3500 rpm por 5 min. Uma alíquota de 5mL foi retirada do sobrenadante e transferida para uma placa de Petri. Foi realizada uma secagem em estufa a 105°C por 5 horas. A solubilidade em água fria foi calculada de acordo com a equação 2 (Eq. 2):

**Eq.2:**

$$Sol (\%) = \frac{\text{massa de sólido do sobrenadante (g)} \times 2}{\text{massa da amostra (g)}} \times 100$$

#### 4.3.4.3 Molhabilidade

A molhabilidade das amostras de amido foi determinada através da adaptação do método de Fuchs et al. (2006). Para a realização da análise foi pesado 0,1 g das amostras devidamente espalhadas na superfície de um béquer contendo 100mL de água destilada a 20°C, sem agitação. O tempo (em segundos) necessário até a partícula final do material estudado afundar e se molhar por inteiro foi usada para determinar extensão da molhabilidade da amostra.

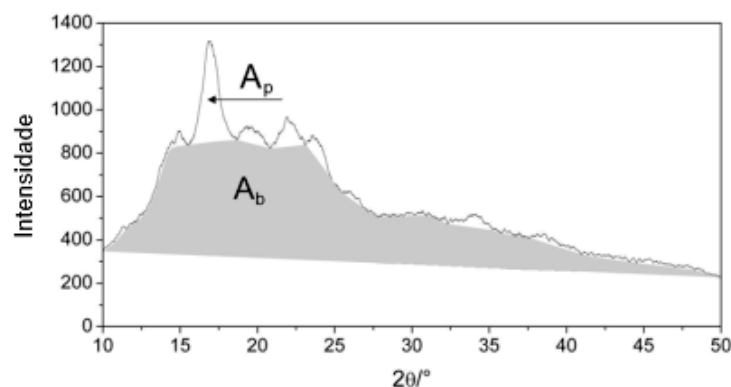
#### 4.3.5 Difratometria de raios-x

A realização da análise de difratometria de raios-X feita através difratômetro de raios-X (*Bruker* – modelo D8 *Advance*), empregou radiação Cu K  $\alpha$  ( $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ ) configurada a 40 kV e 20 mA. A radiação dispersa foi detectada no intervalo angular de 5° a 80° (2 $\theta$ ), em velocidade de escoamento de 2° min<sup>-1</sup>, a um passo de 0,041°.

O grau de cristalinidade relativa foi estimado, utilizando-se o software Microcal Origin 8.6, seguindo o método empregado por outros autores (Hornung et al., 2017; Barbi et al., 2018). A FIGURA 10, mostra os parâmetros que serão utilizados para o cálculo da cristalinidade relativa a partir dos difratogramas. A área acima da porção sombreada é considerada a parcela cristalina ( $A_p$ ), e a área sombreada é tomada como a parcela amorfa ( $A_b$ ). Os valores são obtidos para o índice de cristalinidade dos grânulos de amido ( $X_c$ ). A área do pico de difração superior as áreas das parcelas foram obtidas por integração. A equação 3 (Eq. 3) utilizada para o cálculo da cristalinidade é:

**Eq. 3**

$$X_c = \frac{A_p}{(A_p + A_b)} \times 100$$

**FIGURA 10** – PARÂMETROS PARA O CÁLCULO DA CRISTALINIDADE

FONTE: Adaptado de Alberton et al., (2014).

#### 4.3.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia do grânulo de amido e sua área superficial foram analisadas usando microscopia eletrônica de varredura (Tescan, VEGA 3, Kohoutovice, Czech Republic) sob uma tensão de aceleração de 15 kV e uma ampliação de 1000x, 2000x 3000x, 4000x, 5000x e 24.000x sob baixo vácuo. As amostras foram revestidas com uma fina camada de ouro (Balzers Union, Modelo FL 9496). O tamanho médio dos grânulos dos amidos foi estimado através do *software* ImageJ (National Institute of Health, EUA) versão 1.49v.

### 4.4 CARACTERIZAÇÃO DE PASTA DOS GÉIS DE AMIDO

#### 4.4.1 RVA – Rapid visco analyzer

As propriedades de pasta foram obtidas em equipamento Rapid Visco Analyzer (Perten, RVA 4500, Huddinge, Suécia) utilizando uma concentração de 2,5 g de amido por 30mL de água destilada. Para o cálculo da concentração foram efetuadas correções na quantidade de amostra e na quantidade de água adicionada de acordo com a tabela fornecida pelo fabricante. Todas as amostras foram corrigidas para 14% de umidade. A programação “Standard 1” foi utilizada de acordo com a metodologia 162 proposta pela International Association for Cereal Science and Technology (ICC, 1995).

A suspensão formada por farinha e água foi mantida à 50°C por 3 min e 45 s, para investigar a viscosidade da farinha à baixa temperatura. Em seguida foi aquecida à 95°C sob velocidade constante de 6°C min<sup>-1</sup>, mantida nessa temperatura por 3 min e 30 s. Por fim, a amostra foi resfriada à 50°C durante 4 min e 10 s sob a mesma velocidade, e mantida à esta temperatura por mais 1 min e 25 s, totalizando 12 min e 30 s de marcha analítica. As características de pasta avaliadas foram: pico de viscosidade, viscosidade final, quebra de viscosidade e tendência à retrogradação, expressos na unidade do aparelho, RVU (Rapid Visco Units).

## 4.5 PROPRIEDADES TÉRMICAS DO AMIDO

### 4.5.1 termogravimetria (TG) e termogravimetria derivada (DTG)

As curvas termogravimétricas (TG) foram obtidas de acordo com Barbi et al., (2018). As amostras foram aquecidas em uma faixa de 30°C até 750°C com taxa de aquecimento de 10°C min<sup>-1</sup>. A massa da amostra utilizada foi de aproximadamente 5 µg, pesadas em cadinhos de alumina. Utilizou-se atmosfera de ar sintético sob um fluxo de ar com vazão de 50mL min<sup>-1</sup>. As amostras de amido foram analisadas por TGA utilizando um analisador térmico TGA 4000 (PerkinElmer Inc., EUA). As percentagens de perda de massa foram determinadas utilizando o *software* de análise de dados *Pyris Manager* (PerkinElmer Inc., EUA, versão 11.1). A termogravimetria derivada (DTG) foi determinada com o mesmo *software* auxiliando na determinação das temperaturas de perda de massa.

### 4.5.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas obtidas no Calorímetro Exploratório Diferencial (modelo DSC 8000, Perkin Elmer, USA) foram determinadas de acordo com a metodologia proposta por Barbi et al., (2018). Foi utilizado ar sintético como atmosfera (20 mL.min<sup>-1</sup>), em placas de alumínio (50 µL), com taxa de aquecimento de 10°C min<sup>-1</sup> até 100°C. Foi utilizado aproximadamente 60 mg de amostra previamente hidratadas em uma proporção de 4:1 (água:amido, m/m). A mistura foi mantida

em repouso durante 30 minutos para intumescimento dos grânulos de amido. O instrumento foi previamente calibrado com índio de alto grau de pureza (99,99%, P.F = 156,6°C,  $\Delta H = 28,56 \text{ J g}^{-1}$ ).

#### 4.5.3 Espectroscopia de absorção no infravermelho com retomada de Fourier (FTIR)

A análise das amostras foi realizada conforme a metodologia descrita por Maniglia; Tapia-Blácido (2016) empregando um espectrofotômetro FTIR Bruker no modo DRIFT. A faixa espectral considerada foi 4.000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e uso de 1024 SCANS que possibilita uma investigação da estrutura molecular dos compostos analisados.

A técnica mais comum para amostragem de amidos é a preparação de pastilhas de KBr, empregada nesse estudo. As pastilhas, de 13 mm de diâmetro, foram obtidas com 100 mg de KBr seco e 2 mg (base seca) de amostra em prensa hidráulica manual (carga de 10 ton). O KBr puro é usado como referência para a coleta dos espectros das amostras. Utilizou-se a função de apodização triangular do software Origin para a obtenção dos espectros.

### 4.6 COMPOSTOS BIOATIVOS

#### 4.6.1 Compostos fenólicos

A caracterização e quantificação de compostos fenólicos foi realizada por meio da metodologia descrita por Barbi et al., (2018). Para análise e quantificação de compostos fenólicos totais utilizou-se espectrometria com reagente de Folin-Ciocalteu, metodologia descrita por Singleton & Rossi (1965).

#### 4.6.2 Extração dos compostos fenólicos

A extração de compostos fenólicos dos amidos obtidos a partir das sementes de nêperas foi realizada segundo metodologia descrita por Pantêlic et al., (2016) com modificações propostas por Barbi et al., (2018). Para a aplicação dessa metodologia utilizou-se 2 g das amostras dissolvidas em 20 mL de metanol – água (80/20, v/v), colocadas em agitação durante 1 hora. Em seguida, os extratos foram centrifugados a 5.000 rpm durante 15 minutos e os

sobrenadantes reunidos (extrato contendo compostos fenólicos) e armazenados à 4°C em frascos âmbar.

#### 4.6.3 Análise e quantificação de fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados por espectrometria. Para a análise utilizou-se o reagente de Folin-Ciocalteu, tal como descrito por Singleton & Rossi (1965), com modificações propostas por Barbi et al., (2018). Em microplaca foram adicionadas 144 µL de água destilada, 12 µL de amostra, e 48 µL de reativo de Folin-Ciocalteu. Após 3 min, 36 µL de carbonato de sódio saturado foi adicionado a cada poço e a microplaca agitada. Após 1 h, a absorbância foi medida utilizando um espectrofotômetro com leitor de microplaca a um comprimento de onda de 720 nm. A medição foi comparada com uma curva de calibração do ácido gálico e os resultados expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100 gramas [mg EAG / 100 g].

#### 4.6.4 Antioxidantes

O perfil antioxidante do amido de nêspira foi traçado através do estudo e determinação das suas atividades antioxidantes in vitro utilizando métodos de DPPH (determinação da capacidade de sequestro do radical), FRAP (determinação da capacidade antioxidante de redução), ABTS (determinação da capacidade antioxidante de sequestro de radicais ABTS).

##### 4.6.4.1 Determinação da capacidade de sequestro do radical DPPH •

Desenvolvido por Brand-Williams; Cuvelier; Berset, (1995), o método DPPH• tem como base a redução da absorbância na região visível de comprimento de onda de 515 nm do radical DPPH• por antioxidantes. O método foi realizado em microplaca. Adicionou-se 5 µL de amostra seguido por 195 µL da solução metanólica de DPPH• ,125 µmol/L. Em seguida a solução repousou por 30 minutos no escuro, e a absorbância foi medida utilizando um espectrofotômetro com leitor de microplaca a 517 nm. Os resultados foram expressos em mmol de trolox equivalente/ 100g.

#### 4.6.4.2 Determinação da capacidade antioxidante de redução de ferro (FRAP)

O potencial antioxidante total da farinha e amido de nêspira foi determinado usando o poder antioxidante de redução do ferro pelo ensaio FRAP de acordo com o método proposto por Benzie & Strain, (1996). O ensaio baseia-se no poder redutor do antioxidante presente nas amostras, no qual um antioxidante potencial reduz o íon férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) ao íon ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ), com formação de um complexo azul ( $\text{Fe}^{2+}$ / TPTZ).

O reagente FRAP foi preparado através mistura de tampão acetato (300  $\mu\text{M}$ , pH 3,6), uma solução de 10 $\mu\text{M}$  de TPTZ (2,4,6-tripiridiltriazina) em 40 $\mu\text{M}$  de HCl e  $\text{FeCl}_3$  20 $\mu\text{M}$ , na proporção de 10:1:1 (v/v/v), respectivamente. A leitura foi realizada em microplaca, onde em cada poço foram adicionados: 10 $\mu\text{L}$  da amostra diluída e 300 $\mu\text{L}$  do reativo de FRAP. Após 30 minutos a absorbância foi medida à 593 nm. Para calcular a capacidade antioxidante, a variação de absorbância entre o reagente FRAP e a mistura, após 30 minutos de reação, foi realizada uma correlação com uma curva de calibração do Trolox (0,1-1,0 mmol/L).

#### 4.6.4.3 Determinação da capacidade antioxidante de sequestro de radicais ABTS •+

A determinação da atividade sequestradora de ABTS•+ foi determinada utilizando o método descrito por Re et al., (1999), com modificações propostas por Barbi et al., (2018). Primeiramente, foram preparadas as soluções estoque de 7 mmol/L de ABTS e 2,45 mmol/L de solução de persulfato de potássio. Em seguida, a solução de trabalho foi preparada por mistura de 3 ml de cada solução de estoque, onde reagiu durante 16 h à temperatura ambiente (25°C) no escuro. A solução foi diluída por mistura de 4,0 - 4,5 ml de solução de ABTS com 250 mL de água destilada obtendo uma absorbância de 563 nm. Foi adicionado 300  $\mu\text{L}$  da solução de ABTS e 3  $\mu\text{L}$  da amostra em microplaca. A mistura foi submetida à agitação e armazenada no escuro durante 30 min, e a absorbância será medida a 734 nm. Realizou-se a análise em triplicata e os



resultados obtidos foram comparados com a curva padrão (Trolox 100-1000  $\mu\text{mol} / \text{L}$ ) expressa em mmol equivalente Trolox por grama [ET mmol / g].

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados dos resultados obtidos foram conduzidos em três repetições e avaliadas por análise estatística univariada (análise de variância - ANOVA) e teste de Tukey para a comparação das amostras com nível de significância de 5% utilizando o *software STATISTICA*® (Statsoft, Tulsa, USA), versão 10.

### 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 5.1 RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO

O rendimento da extração de amido é descrito com um atributo de qualidade do amido e também de valorização dos métodos de extração e do produto. Não foi observada diferença significativa para a característica de rendimento do amido extraído das sementes de nêspira. As médias de rendimento de extração de amido variaram entre 20,2% (amostra AG) e 22,5% (amostra AC), de acordo com a TABELA 5.

TABELA 5 – VALORES MÉDIOS DE RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO	
AMOSTRA	MÉDIA DO RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO DE AMIDO (%)
AC	22,5%
AG	21,8%
AL	20,2%

O rendimento da extração de amido utilizando as metodologias ácida e alcalina não foram descritas na literatura até o momento. Barbi et al (2018), descreve uma média de 18% para extração neutra (convencional) aplicada para amidos de semente de nêspira verdes e maduras contendo o endocarpo das sementes.

Os materiais AC e AL apresentaram-se com médias superiores para o rendimento de extração, o que contribui para um melhoramento da qualidade da extração e possivelmente qualidade da sua extração a nível industrial.

## 5.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS AMIDOS DE SEMENTES DE NÊSPERA

A TABELA 6 descreve os parâmetros físico-químicos dos amidos das sementes de nêspira obtidos a partir dos métodos de extrações ácida, aquosa e alcalina (AC, AG e AL, respectivamente).

**TABELA 6** - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DE AMIDOS ISOLADOS DE SEMENTES DE NÊSPERA EM BASE SECA.

	Composição centesimal - g/100 g		
	AC	AG	AL
Umidade	12,96 <sup>a</sup> ± 0,11	10,46 <sup>b</sup> ± 0,17	13,24 <sup>a</sup> ± 0,37
Cinzas	0,15 <sup>c</sup> ± 0,01	0,97 <sup>a</sup> ± 0,01	0,36 <sup>b</sup> ± 0,05
Lipídios	0,34 <sup>c</sup> ± 0,01	0,94 <sup>a</sup> ± 0,02	0,73 <sup>b</sup> ± 0,01
Proteínas	1,18 <sup>c</sup> ± 0,01	3,22 <sup>a</sup> ± 0,01	2,17 <sup>b</sup> ± 0,13
Fibras	0,92 <sup>c</sup> ± 0,25	9,34 <sup>a</sup> ± 0,51	5,10 <sup>b</sup> ± 0,48
Carboidratos	84,42 <sup>a</sup> ± 0,37	73,92 <sup>c</sup> ± 0,19	79,49 <sup>b</sup> ± 0,40

Médias ± desvio padrão seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

As amostras analisadas apresentaram valores de umidade entre (10,46 – 13,44%), e cinzas na faixa de (0,25 – 0,97%). Os valores obtidos foram condizentes com a legislação para amidos convencionais (ANVISA – RDC n° 263, 2005). Não existem legislações para amidos não-convencionais e sanções regulamentam e impõem limites as modificações químicas em amidos. Os teores de proteína encontrados em todas as amostras apresentaram uma faixa entre 1,18 a 3,22%, valores pouco mais elevados que os citados na literatura para amido de nêspira (0,61 – 1,46%) (BARRETO et al., 2009; BARBI et al., 2018). Essa diferença em teores de proteína pode ser explicada por fatores como variação de cultivares, condições de desenvolvimento da planta, maturação, influenciando diretamente na composição do fruto e posteriormente, na aplicação e a modificação que a extração causa no amido (SINGH, MCCARTHY, MOUGHAN E KAUR, 2007). Ainda assim, os valores de proteína dos amidos de nêspira foram semelhantes aos encontrados para

amido de sementes de jaca mole (*Artocarpus heterophyllus* L.) de 1,53% (MADRUGA et al., 2014). Zavareze et al., (2009), aponta que amidos de arroz tratados com maceração alcalina durante a extração apresentaram baixos teores de proteína (6,62%).

O teor de lipídios totais variou de 0,34% (AC) a 0,94% (AG) condizente com a literatura (0,41 – 0,72%) (BARBI et al., 2018) e comparável com valores de amidos obtidos de fontes convencionais como o amido de milho (0,51%) (PRZETACZEK-ROZNOWSKA, 2017). Menores valores de lipídios para a amostra AC se devem a oxidação ocasionada na etapa de secagem (40°C) e quebra das ligações realizada em imersão na solução ácida. Essa oxidação envolve uma produção deliberada de grupos carboxila. Esses grupos são capazes de substituir grupos hidroxilas, produzindo uma pasta com baixa viscosidade, menor peso molecular e alterações na tendência a retrogradação devido ao impedimento esteárico (MATSUGUMA et al., 2009). Um exemplo positivo para a presença de lipídios nesses amidos é a produção de embalagens biodegradáveis ou comestíveis. Estes necessitam de amidos com boas propriedades de barreira conseguida pela ação de lipídios (SANDOVAL GORDILLO et al., 2014).

Os métodos de extração AG e AL foram menos efetivas frente à extração ácida que foi capaz de remover a maior quantidade de fibra, resultando em amido com menos interferentes aderidas a superfície dos grânulos. A quantidade de fibras influencia na qualidade da pasta formada, na estabilidade térmica e na cor do amido (SINGH et al., 2007).

Os processos de extração podem ser descritos como de alta eficiência quando são quantificadas baixas quantidades de lipídios, proteínas, fibras e cinzas no amido obtido (GUO et al., 2018; e HOOVER, 2001). Os baixos valores para o conjunto desses compostos, para o amido de nêspira obtido por extração ácida, permitem avaliar este método como sendo de alta eficiência em comparação aos valores obtidos para as amostras AG e AL. Comparativamente ao exposto por Maniglia et al., (2016) para o amido de babaçu obtido por extração ácida (Lipídios: 0,13 – 1,75% / Proteína: 1,16 – 1,38% / Fibras: 0,66 – 1,72%), os parâmetros apresentados para as extrações com uso de ácido e álcali para os amidos obtidos da semente de nêspira demonstraram os menores valores. Hoover (2001), aponta em seus estudos

que a qualidade e a pureza do amido extraído têm uma relação de proporção direta com a presença desses compostos.

### 5.3 CARACTERIZAÇÃO DE COR DOS AMIDOS

Os amidos obtidos apresentaram cores diferentes em tons de amarelo, branco e até tons avermelhados, diferindo conforme técnica de extração utilizada. A FIGURA 11 aponta a diferença de tonalidades entre os amidos obtidos. A amostra AC apresentou um tom mais branco, enquanto a AG um tom mais amarelado. A amostra AL diferiu apresentando tonalidades vermelhas em sua totalidade.

**FIGURA 11** - AMIDOS EXTRAÍDOS DA SEMENTE DE NÊSPERA POR VIA ÁCIDA, AQUOSA E ALCALINA.



AC: Extração ácida.

AG: Extração Aquosa

AL: Extração Alcalina

FONTE: O autor (2019)

Os valores listados na TABELA 7 descrevem os parâmetros de cor  $L^*$  - luminosidade,  $a^*$  (- verde; + vermelho) e  $b^*$  (- azul; + amarelo) para os amidos obtidos por diferentes métodos de extração (AC, AG e AL).

**TABELA 7** - PARÂMETROS  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  DOS AMIDOS OBTIDOS POR DIFERENTES EXTRAÇÕES.

AMOSTRAS	$L^*$	$a^*$	$b^*$
AC – Ácida	93,40 <sup>a</sup> ± 0,01	2,12 <sup>b</sup> ± 0,02	9,83 <sup>b</sup> ± 0,05
AG – Aquosa	79,23 <sup>b</sup> ± 0,11	6,19 <sup>a</sup> ± 0,09	15,93 <sup>a</sup> ± 0,04
AL – Alcalina	77,80 <sup>c</sup> ± 0,06	6,17 <sup>a</sup> ± 0,03	22,20 <sup>a</sup> ± 0,04

Médias ± desvio padrão seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

Todos os amidos tenderam a tons predominantes amarelados, uma vez que o parâmetro  $b^*$  foi positivo e tons avermelhados pelos valores positivos

para o parâmetro  $a^*$ . A tendência de cor amarelada pode estar relacionada a presença de compostos fenólicos, como será descrito posteriormente. A amostra AC apresentou maiores valores de luminosidade ( $L^*$ ), isso pode ser relacionado a modificação causada pelo tratamento em ácido ascórbico e branqueamento sofrido pela amostra. O parâmetro de cor  $a^*$  do amido obtido por extração alcalina e neutra apresentou os maiores valores, indicando tons avermelhados nesses materiais. Esses tons avermelhados podem estar correlacionados com a produção de fenóxidos associados a cromóforos. Esses compostos reagem com o ar pela oxidação, sendo assim, responsável pela produção de um material mais escuro em comparação com o material obtido através da extração ácida (Oliveira, 2015).

#### 5.4 CARACTERIZAÇÃO DE HIGROSCOPICIDADE, SOLUBILIDADE E MOLHABILIDADE DOS AMIDOS

A TABELA 8 demonstra os dados para o comportamento de Solubilidade, Higroscopicidade e a Molhabilidade dos amidos obtidos por extração ácida, neutra e alcalina.

**TABELA 8** – VALORES OBTIDOS PARA HIGROSCOPICIDADE, SOLUBILIDADE E MOLHABILIDADE DOS AMIDOS EXTRAÍDOS

Amostras	Solubilidade (%)	Higroscopicidade (g.100g <sup>-1</sup> )	Molhabilidade (s)
AC	1,65 <sup>a</sup> ± 0,55	8,39 <sup>a</sup> ± 0,61	8,05 <sup>b</sup> ± 0,23
AG	1,33 <sup>a</sup> ± 0,64	8,10 <sup>a</sup> ± 0,61	40,34 <sup>a</sup> ± 0,67
AL	1,60 <sup>a</sup> ± 0,40	8,26 <sup>a</sup> ± 0,14	4,96 <sup>c</sup> ± 0,31

Médias ± desvio padrão seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey

##### 5.4.1 Solubilidade

Os valores de solubilidade dos amidos AC, AG e AL não apresentaram diferenças significativas. Apesar da diferença existente entre as amostras para valores de proteína e lipídios, como os apresentados na TABELA 6, estes não foram suficientes para causar diferenças na propriedade de solubilidade.

Matsuguma et al., (2009) em estudos de caracterização do amido de *Arracacia xanthorrhiza*, demonstrou que a solubilidade do amido está relacionada ao teor de amilose presente nos grânulos e a temperatura em que é submetido, tendo nenhuma interferência devido a presença de outros componentes.

#### 5.4.2 Higroscopicidade

Nenhuma amostra de amido apresentou diferenças significativas em termos de capacidade de adsorção de água (TABELA 8). Diante dos dados obtidos, é possível afirmar que os métodos de extração utilizados, apesar de causarem alterações em características de composição centesimal e estruturais, não foram capazes de modificar a higroscopicidade do material.

Os estudos da estrutura molecular do amido apontaram que as alterações existentes em características de higroscopicidade geralmente estão relacionadas a hidrólises ou quebras de ligações glicosídicas. A quebra das ligações são capazes de fornecer moléculas de mono e dissacarídeos (Witczak et al., 2017). Essas moléculas são descritas como as principais responsáveis pelo aumento de adsorção de água pelos grânulos de amido conforme Gonçalves et al. (2014) e Pérez; Bertoft (2010). O amido obtido a partir da semente de nêspira apresenta uma estrutura cristalina do tipo C, o que confere uma resistência a hidrólise enzimática.

#### 5.4.3 Molhabilidade

O parâmetro de molhabilidade é capaz de fornecer informações a respeito das propriedades de superfície dos grânulos de amido, ou seja, a habilidade que a partícula tem de se manter contato com uma superfície líquida. As informações oferecidas são importantes para a definição da aplicação para qual essa amostra vai ser destinada, quer seja um novo produto ou como componente de uma embalagem biodegradável.

Os resultados obtidos apontaram diferenças significativas de uma amostra para outra, onde a AL apresentou o menor valor de molhabilidade (4,96 s.), aproximadamente 10 vezes menor que o obtido para amidos por extração neutra AG (40,34 s.). Os referentes dados podem estar relacionados a

presença de proteínas, lipídios e fibras, assim como hidrólises ou quebras de ligações glicosídicas e caracterização da integridade dos grânulos. Esses componentes, quando em solução, disputam a quantidade de água, afetando diretamente os parâmetros de molhabilidade e afinidade com a água do amido, assim como uma superfície mais íntegra absorve menos água.

## 5.5 CARACTERÍSTICA MORFOLÓGICA E ESTRUTURA CRISTALINA DOS AMIDOS DAS SEMENTES DE NÊSPERA

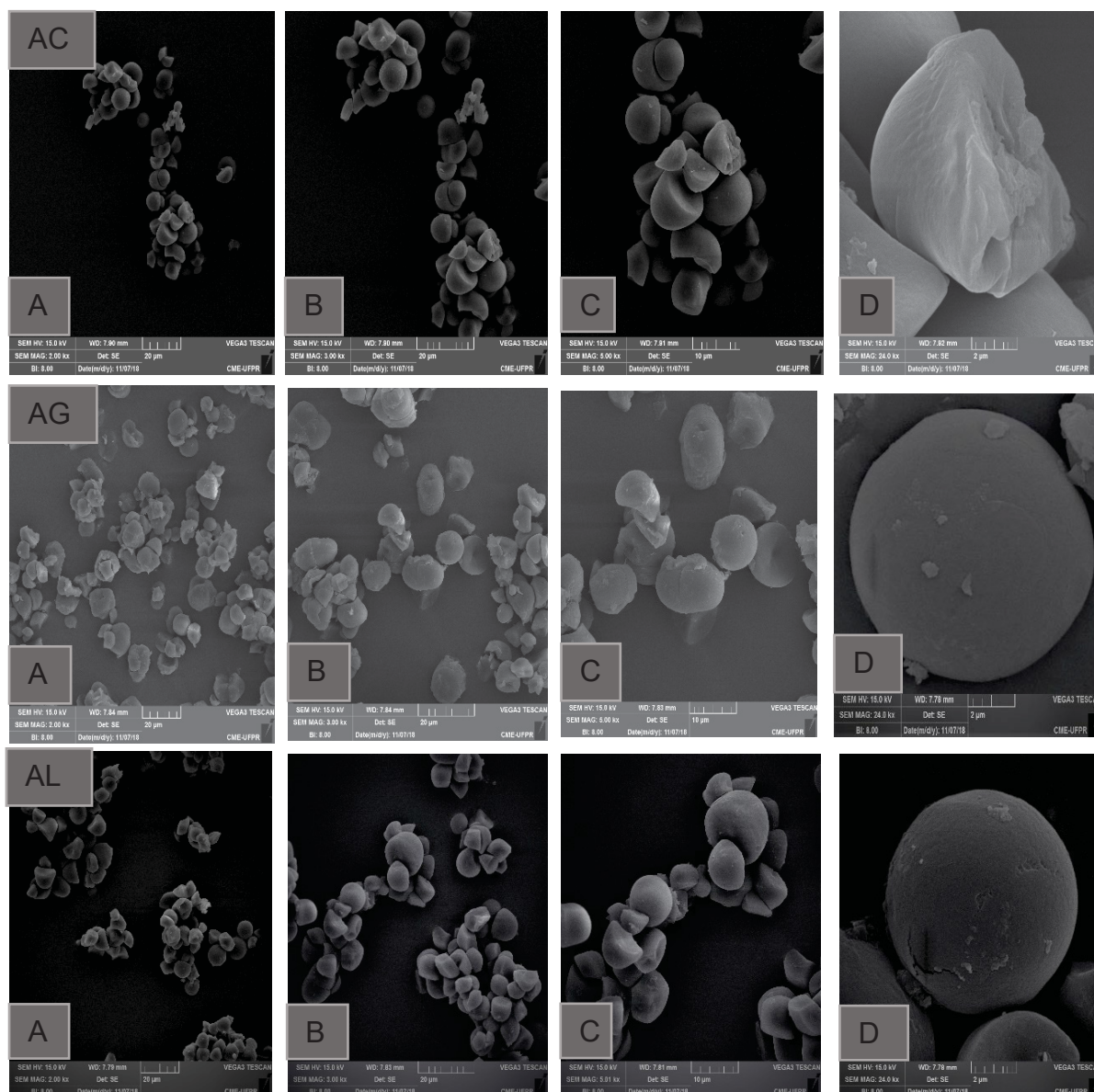
### 5.5.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As micrografias (MEV) dos grânulos de amido das sementes de nêspersas são mostradas no conjunto de FIGURA 12. Ao ser feito o estudo da morfologia e o tamanho médio dos grânulos de amidos, é importante levar em consideração também a biossíntese do amido, a fisiologia da planta de origem e a origem botânica. Estes fatores apresentam impacto direto nas características morfológicas do amido e em sua capacidade de formação de pasta.

As amostras de amido estudadas apresentaram, de forma geral, grânulos caracteristicamente semelhantes em formato geométrico esférico e ovalado, apresentando ainda, em alguns grânulos uma espécie de concavidade em sua base. As amostras AG e AL apresentaram alguma aglomeração entre os grânulos sugerindo uma aparente adesão entre as superfícies, que as deixa com formas menos definidas (FIGURA 12). Enquanto a amostra AC, apresentou uma superfície lisa, sem interferências, porém, com grânulos rompidos e com rachaduras (FIGURA 12).



**FIGURA 12** – MICROGRAFIAS DOS GRÂNULOS DE AMIDO DE NÊSPERA PROVENIENTE DA EXTRAÇÃO ÁCIDA (AC), AQUOSA (AG) E ALCALINA (AL), RESPECTIVAMENTE OBTIDOS POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).



LEGENDA: AUMENTO DE 2000x (A); 3000x (B); 5000x (C) e 24.000x (D). FONTE: O autor (2019).

Os tamanhos médios dos grânulos das amostras estão apresentados na TABELA 9. As medidas dos grânulos possuem uma variação de 26,26 – 35,59  $\mu\text{m}$ . Todos os amidos analisados apresentaram diâmetro médio dentro da faixa reportada por Damoran; Parking; Fennema (2010), para amido de milho comum ceroso (2 – 30  $\mu\text{m}$ ), amido de batata (5 – 100  $\mu\text{m}$ ), amido de tapioca (4 – 35  $\mu\text{m}$ ) e amido de trigo (2 – 55  $\mu\text{m}$ ) e semelhante a faixa para o amido de nêspera de 29,05  $\mu\text{m}$  a 43,66  $\mu\text{m}$  segundo Barbi et al., (2018).



**TABELA 9** – VALORES DE DIÂMETRO MÉDIO DOS AMIDOS DE NÊSPERA.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) – Diâmetro médio (µm)	
AC	26,26 <sup>b</sup> ± 0,03
AG	32,75 <sup>a</sup> ± 1,00
AL	35,59 <sup>a</sup> ± 1,44

Médias ± desvio padrão seguidas da mesma letra nas colunas, não diferem entre si ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

O amido AC da semente de nêspira apresentou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) em seu diâmetro médio em comparação aos demais amidos, AG e AL. Em geral, as amostras que foram extraídas com o método ácido apresentaram grânulos menores e mais límpidos. Nenhuma impureza e aderência foi notada na superfície dos grânulos. Alguns grânulos apresentam-se mais quebrados e presença de uma maior quantidade de particulados do que os amidos que foram obtidos por meio de extração alcalina e aquosa.

As diferenças supracitadas são explicadas devido às alterações e modificações causadas pelos agentes químicos utilizados no processo de extração, pelo aumento e diminuição do pH, auxiliado pela lixiviação gerada nas lavagens aplicadas. O baixo pH na maceração ácida contribui para o rompimento excessivo dos grânulos. Ainda, os intervalos de tamanho dos grânulos para todas as amostras obtidas não são tão amplos quanto as faixas para os amidos convencionais mencionados anteriormente. Ao compararmos a variação no diâmetro médio dos amidos obtidos verificamos uma menor variação no tamanho do grânulo para AC ( $\pm 0,03$ ) o que pode ser uma caracterizando-os por apresentarem uma maior uniformidade entre os grânulos.

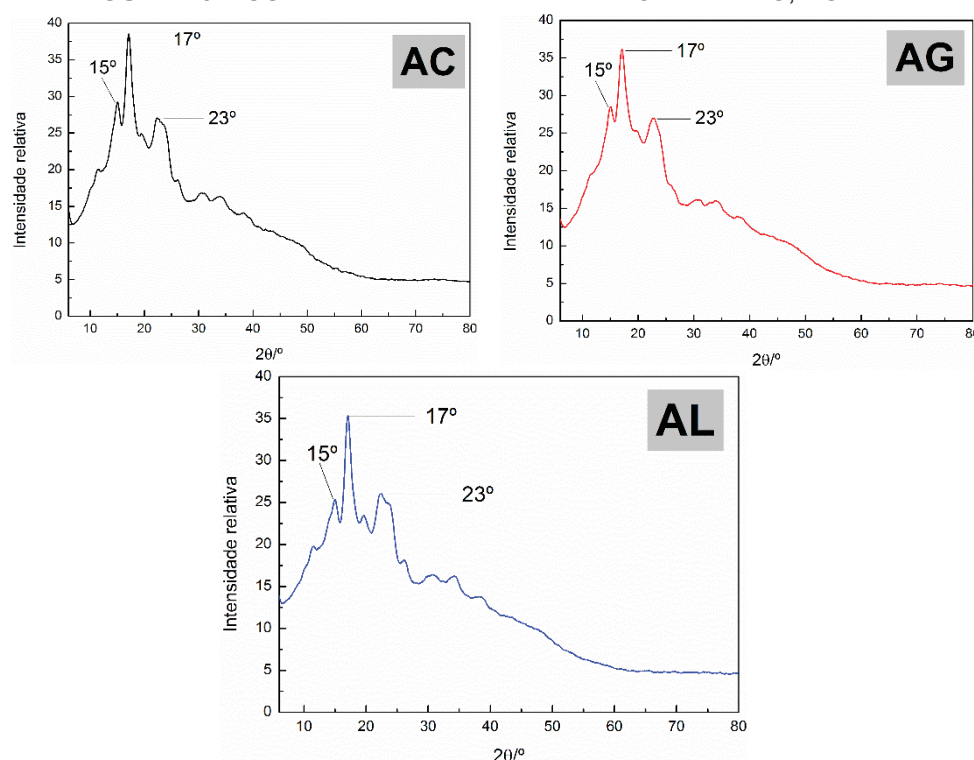
Embora as micrografias demonstrem que a extração dos amidos das sementes de nêspira por uso da via ácida, tenha resultado em superfícies com aspectos de uma extração eficiente quanto ao grau de pureza, as demais metodologias descreveram amidos com necessidade de uma etapa extra de purificação. Considerando os resultados expressos em discussões anteriores quanto a composição centesimal (TABELA 6), sobram, mesmo que em baixa quantidade, partículas agregadas nas superfícies dos grânulos como as fibras; evidenciaram a necessidade de uma etapa extra (lavagem ou aplicação de

uma metodologia extra de separação física) para a total e completa purificação do amido para as extrações por via neutra como exposto por Barbi et al., (2018) e para a extração alcalina como demonstrado por Maniglia et al., (2016).

### 5.5.2 Difratometria de raios-x (DRX)

Todas as amostras de amido de nêspera estudadas têm seu padrão de comportamento descrito nos difratogramas da FIGURA 15. Através da avaliação e estudo dos gráficos é possível afirmar que todos os materiais apresentaram picos característicos do tipo C de cristalinidade iguais  $15^\circ$ ,  $17^\circ$  e  $23^\circ$  em  $2\theta$ . A partir dos dados obtidos é possível afirmar que as amostras AC, AG e AL são classificadas como TIPO C de cristalinidade relativa, ou seja, seu comportamento apresenta características do padrão TIPO A e TIPO B, uma forma cristalina média que ocorre em amidos provenientes de sementes e leguminosas.

**FIGURA 15 – CURVAS DE DRX PARA AS AMOSTRAS AC, AG E AL.**



FONTE: O autor (2019).

Os valores de cristalinidade relativa obtidos na análise de DRX são demonstrados na TABELA 10. Esses dados revelam que todas as amostras possuíram altos valores de cristalinidade relativa. Estes dados foram similares aos obtidos por BARBI et al., (2018) para o amido de nêspira proveniente de extração neutra.

**TABELA 10 – RESULTADOS DE DRX PARA AMIDOS DE NÊSPERA**

<b>DRX – Grau relativo de cristalinidade</b>	
<b>AC</b>	42,39 <sup>a</sup> ± 0,25
<b>AG</b>	35,81 <sup>b</sup> ± 0,04
<b>AL</b>	41,30 <sup>a</sup> ± 0,40

Médias ± desvio padrão seguidas da mesma letra, não diferem entre si ao nível de significância de 5% (p<0,05%) pelo teste de Tukey.

As amostras apresentaram diferenças significativas (p >0,05) entre elas. Em especial a amostra AG, apresentou valor abaixo das demais amostras (35,81%), o menor índice de cristalinidade. Esse fato se deve a pouca ou nenhuma alteração na região cristalina devido ao uso de água na extração, além da presença de interferentes como lipídios, proteínas e fibras. Maniglia; Tapia-Blácido (2016) afirmou em estudos recentes para amido extraído do mesocarpo do babaçu e de seus resíduos que a quantidade de proteínas e fibras também é capaz de causar interferência no índice de cristalinidade do material estudado.

Uma vez que a região cristalina do grânulo de amido consiste em arranjos organizados das cadeias laterais de amilopectina, as modificações causadas por possível hidrólise ácida e alcalina nas ramificações de dupla hélice nos amidos possuem impacto direto no índice de cristalinidade do amido (Witczak et al., 2017). Apesar disso, nenhuma modificação na estrutura cristalina dos materiais AC e AL foram notados quando comparado aos dados apresentados na literatura.

## 5.6 CARACTERIZAÇÃO DA FORMAÇÃO DE PASTA EM AMIDOS

### 5.6.1 RVA – Rapid visco Analyzer

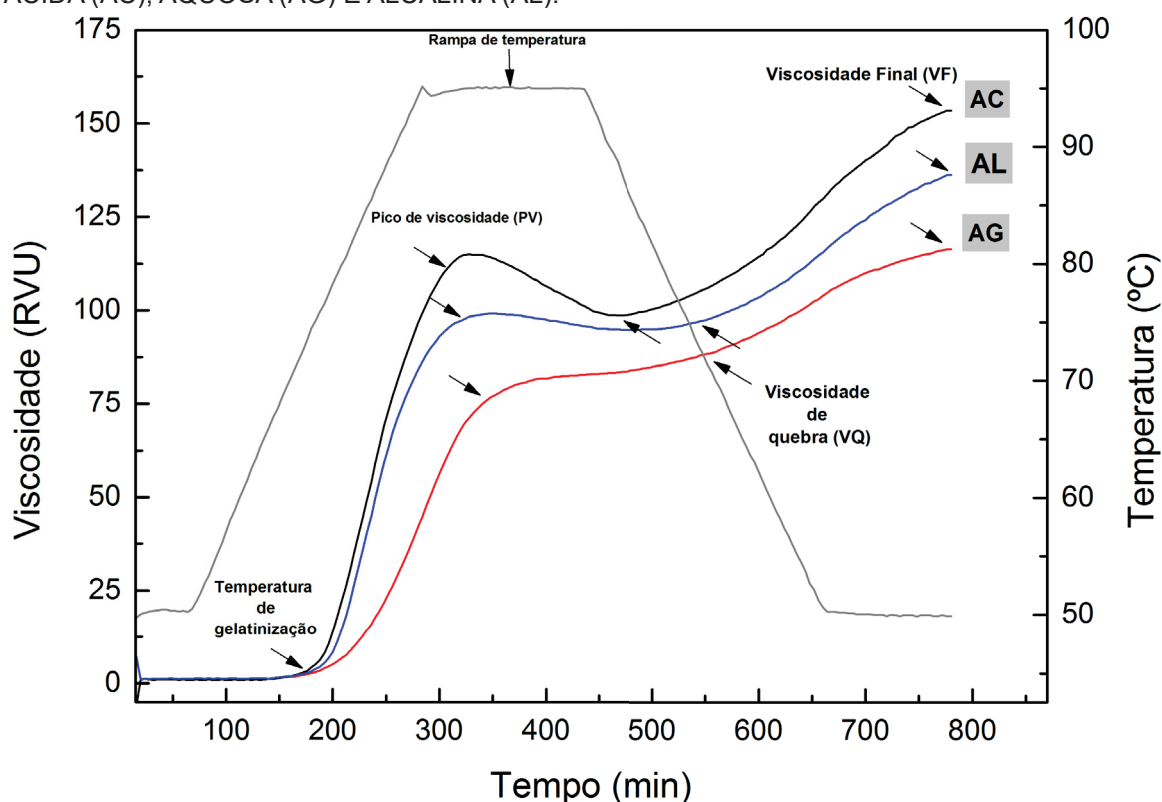
O Rapid Visco Analyzer (RVA) é uma ferramenta que serve como alternativa usual para o estudo das propriedades de pasta e do comportamento no uso industrial dos amidos. Os parâmetros de pasta obtidos para AC, AG e AL foram dispostos na TABELA 11 e o padrão de comportamento da viscosidade das amostras na FIGURA 16. É possível observar diferenças entre as amostras para todos os parâmetros.

AC, AG e AL apresentaram um perfil de pasta similar entre si. Todas as amostras sofreram influências devido aos métodos de extração. A amostra AG, apresentou uma maior temperatura de pasta e uma baixa viscosidade de quebra, assim como um baixo valor de “Setback” (viscosidade final menos “trough”). Avaliando esses parâmetros, é possível afirmar que o amido AG é capaz de desenvolver uma viscosidade mais rapidamente quando sofre resfriamento. A amostra AC apresentou um maior pico de viscosidade (115,71 RVU) quando comparado com a amostra AG (82,41 RVU) e AL (99,08 RVU). Esses resultados (TABELA 11) estão relacionados a maior presença de solutos na amostra. Lipídios, proteínas, açúcares e fibras interferem no poder de inchamento dos grânulos, causando alteração na velocidade em que a viscosidade é desenvolvida. Sólidos solúveis mudam a capacidade de absorção de água necessária para a hidratação dos grânulos. Deffenbaugh & Walker (1989) correlacionaram o aumento no pico de viscosidade com a presença de açúcares e outros solutos. A organização e interação entre as moléculas existentes na solução pode ser desejável nas características finais de filmes biodegradáveis a base de amido (ANDRÉS GALINDEZ et al., 2019).

**TABELA 11** – PARÂMETROS DO COMPORTAMENTO DA PASTA OBTIDOS POR RVA PARA AC, AG E AL.

RVA – Rapid Visco Analyzer			
	Amostras		
	AC	AG	AL
Pico de viscosidade (RVU)	115,75	82,41	99,08
Trough (RVU)	98,58	79,03	94,66
Viscosidade de quebra (RVU)	16,41	3,33	4,41
Viscosidade final (RVU)	153,41	116,25	136,16
Setback (RVU)	54,83	37,16	41,50
Tempo para o pico (min)	5,47	6,93	5,80
Temperatura de pasta (°C)	61,60	63,40	62,45

**FIGURA 16** – PADRÕES DE COMPORTAMENTO DO AMIDO OBTIDOS POR EXTRAÇÃO ÁCIDA (AC), AQUOSA (AG) E ALCALINA (AL).



A temperatura de pasta é um parâmetro fundamental para indicar a temperatura mínima necessária para a formação de pasta. Variações e alterações nesse parâmetro podem dar informações sobre a funcionalidade e uso desse amido, assim como o custo energético do processo (Denardin &

Silva, 2009). As amostras AC, AG e AL mostraram uma similaridade na temperatura de pasta, com um valor numérico pouco superior para amostras AC. Esse fato está correlacionado a estabilidade e fragilidade dos grânulos e a quantidade de água absorvida para a formação de pasta. Condições também atreladas ao tempo necessário para atingir o pico de viscosidade (Ravi et al., 1999).

O tratamento ácido das amostras foi capaz de quebrar as ligações de hidrogênio, permitindo um rápido inchamento do grânulo quando comparado a extração aquosa e alcalina. O pH da extração é um importante fator a ser controlado, uma vez que o amido em pH 4,0 oferece o máximo de hidratação e inchamento, conseqüentemente uma quebra rápida dos grânulos de amido. O alto pico de viscosidade e a baixa temperatura de formação de pasta podem estar associados ao baixo conteúdo de amilose (FRANKLIN et al., 2017).

Parâmetros de viscosidade de quebra ou breakdown (viscosidade de pico menos “trough”) são capazes de indicar a facilidade com que os grânulos de amido inchados podem quebrar ou se desintegrar quando submetidos a fluxo de calor (Catarina De Oliveira Guimarães et al., 2013). O alto valor da viscosidade de quebra para a amostras AC (16.41 RVU) mostra que os grânulos são frágeis. Esse fato pode ser confirmado através das micrografias apresentadas anteriormente (FIGURA 12).

A viscosidade máxima ou viscosidade final atingida durante o Setback (viscosidade final menos “trough”) também é relacionada a presença de outros constituintes na composição das amostras (Ravi et al., 1999). Os três amidos apresentaram um aumento na viscosidade durante o resfriamento. A amostra AC apresentou valores elevados (54.83 RVU) quando comparado com as amostras AG e AL. Reações químicas podem ocorrer durante o resfriamento da pasta. De acordo com (Puncha-Arnon & Uttapap, 2013) açúcares interagem com as cadeias de amilose e amilopectina durante a etapa de resfriamento no teste de RVA. Essas interações são capazes de formar ligações e rearranjos, além de novas associações, o que leva ao aumento da viscosidade durante a queda de temperatura (Puncha-Arnon & Uttapap, 2013). O aumento da viscosidade atingindo o valor máximo durante o resfriamento é um indicativo não só da relação inversa existente entre temperatura e viscosidade, mas, uma tendência de grânulos inchados, fragmentados e amidos dissolvidos

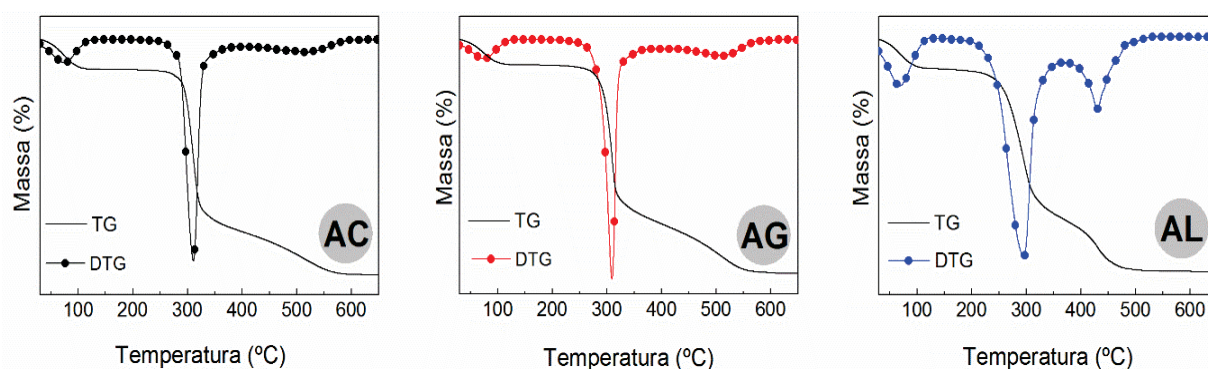
retrogradarem (Singh et al., 2007). Todas as três amostras de amido mostraram uma alta tendência de retrogradação, evidenciado por atingirem os maiores valores de viscosidade quando resfriados na última etapa da análise de RVA (FIGURA 16).

## 5.7 PROPRIEDADES TÉRMICAS DO AMIDO – ANÁLISES TÉRMICAS

### 5.7.1 Termogravimetria (TG) e termogravimetria derivada (DTG)

Foram obtidas curvas termogravimétricas para cada amido estudado (AC, AG e AL). A observação dos eventos térmicos pode ser feita na FIGURA 17 e os dados obtidos foram dispostos na TABELA 12.

**FIGURA 17 – CURVAS TG/DTG DE AMIDOS DAS SEMENTES DE NÊSPERA.**



As amostras de amido de nêspira que foram obtidas por diferentes métodos de extração apresentaram comportamento semelhante em relação a perda de massa ( $\Delta m$ ) no primeiro evento da análise térmica (TABELA 10). Esse evento é considerado uma desidratação e pode se supor que os amidos possuem um teor de umidade semelhante entre si e concordante ao estabelecido na composição centesimal (TABELA 6).



**TABELA 12** – RESULTADOS DAS CURVAS TG/DTG DOS AMIDOS DAS SEMENTES DE NÊSPERA.

Amostras	TG		DTG	
	Evento térmico	$\Delta m/\%$	$\Delta T/^{\circ}\text{C}$	$T_p/^{\circ}\text{C}$
AC	1°	12,8	21 - 111	67,88
	Estabilidade	-	111 - 258	-
	2°	65,041	258 - 360	308,1
	3°	21,736	360 - 585	523,7
AG	1°	10,945	27 - 123	68,03
	Estabilidade	-	123 - 251	-
	2°	64,741	251 - 377	305,47
	3°	22,903	377 - 577	514,04
AL	1°	12,97	27 - 116	65,46
	Estabilidade	-	116 - 206	-
	2°	67,06	206 - 382	292,02
	3°	20,88	382 - 511	423,19

$\Delta m$  - perda de massa (%);  $\Delta T$  - variação de temperatura;  $T_p$  - temperatura de pico.

O segundo evento térmico observado (TABELA 12) é descrito como o evento de despolimerização das macromoléculas de amido. Para este evento, os valores apresentados de variação de perda de massa tiveram diferenças significativas entre as três amostras (TABELA 12). Os valores obtidos sugerem uma diferença na presença de macromoléculas que foram carregadas durante o processo de extração, apontado o AG como a amostra que obteve uma menor perda de massa devido a maior presença de proteínas.

A carbonização é descrita como o terceiro evento térmico (TABELA 12) observado no comportamento das amostras durante a análise termogravimetria. O aumento da temperatura que variou de 360 a 585°C causou um processo de carbonização e mineralização da matéria orgânica nos amidos obtidos. As amostras AC e AG apresentaram um pico de temperatura de 523,7°C e 514°C, respectivamente. A amostra AL apresentou uma temperatura de pico mais baixa.

A análise de termogravimetria foi capaz de elucidar o comportamento e estabilidade térmica dos amidos submetidos ao aquecimento. O monitoramento das propriedades que foram alteradas e que permaneceram inalteradas é de



fundamental importância para definir o uso desse material quanto um aditivo e melhorador alimentício ou principal constituinte de produtos farmacêuticos e da indústria têxtil.

### 5.7.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O estudo do DSC foi conduzido para as três amostras de amido (AC, AG e AL) com o intuito de determinar a faixa de gelatinização (40 – 80°C) e alterações de ordem estrutural durante o aquecimento em excesso de água. Os perfis das curvas de DSC produzidas para as amostras de amido encontram-se na FIGURA 18, assim como os resultados para os valores de temperatura de início, pico e conclusão dos eventos térmicos foram demonstrados na TABELA 13)

As amostras de amido de nêspira apresentaram temperaturas de pico menores ou iguais aos amidos convencionais, como amido de arroz ( $T_p$  77,8°C), milho ( $T_p$  73,2°C), mandioca ( $T_p$  69,0°C) e a própria Nêspira ( $T_p$  62,80°C) (NAKTHONG; WONGSAGONSUP; AMORNSAKCHAI, 2017; BARBI et al., 2018). O perfil de comportamento térmico da nêspira foi bastante semelhante ao perfil térmico do amido extraído do pinhão ( $T_p$  63,4°C) estudado por Bello-Pérez et al. (2006).

**TABELA 13** – RESULTADOS DE DSC DE GELATINIZAÇÃO DE AMIDOS DAS SEMENTES DE NÊSPERA.

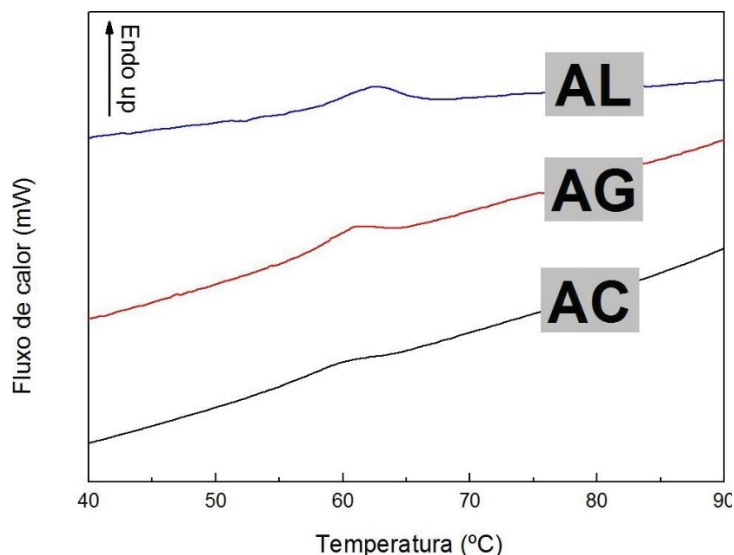
Amostras	DSC			
	Onset - $T_o/^\circ\text{C}$	Pico - $T_p/^\circ\text{C}$	Final - $T_c/^\circ\text{C}$	$\Delta H_{\text{gel}}$ (J/g)
<b>AC</b>	57,29 <sup>a</sup> ± 0,8	60,53 <sup>a</sup> ± 0,24	64,21 <sup>a</sup> ± 0,63	1,33 <sup>a</sup> ± 0,27
<b>AG</b>	56,82 <sup>a</sup> ± 0,47	60,53 <sup>b</sup> ± 0,24	64,03 <sup>a</sup> ± 1,15	0,79 <sup>a</sup> ± 0,36
<b>AL</b>	57,90 <sup>a</sup> ± 0,81	62,18 <sup>a</sup> ± 0,22	67,19 <sup>a</sup> ± 1,80	1,31 <sup>a</sup> ± 0,29

$T_o$  “onset” temperatura de início,  $T_p$  temperatura de pico,  $T_c$  “endset” temperatura de conclusão,  $\Delta H_{\text{gel}}$  entalpia de gelatinização. Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Notou-se que o fenômeno de gelatinização ocorreu durante a faixa de temperatura de 56,82 a 57,90°C para as três amostras. As temperaturas para esse rearranjo dos grânulos são semelhantes para as amostras AC e AG.

A diferença existente entre o amido AL e os demais pode ser associada à diminuição da estrutura cristalina dos grânulos, modificada com o auxílio da solução de alcalina de hidróxido de sódio (NaOH) utilizada na sua extração, assim como a presença de proteínas que agem como uma barreira física reduzindo a absorção de água (JULIANO; ONATE; del MUNDO, 1965).

**FIGURA 18** – CURVAS DSC DE GELATINIZAÇÃO DE AMIDOS DAS SEMENTES DE NÊSPERA.



FONTE: O autor (2019).

Os amidos AC e AL apresentaram baixos valores de variação de entalpia ( $\Delta H$ ), sendo relacionado com as baixas temperaturas de gelatinização obtidas. Os dados obtidos para AG foram semelhantes aos publicados para amidos de sementes de nêspira obtidos por extração aquosa, o que condiz com as baixas temperaturas de gelatinização apresentadas. A quantidade de energia necessária para a desintegração da ordem estrutural dos grânulos de amido é menor, variando de 0,79 a 1,33 J/g. Tamanho e forma do grânulo, comprimento da cadeia de amilopectina, estágios de maturação e condições climáticas ao desenvolver da planta, assim como a saúde da planta são fatores que fornecem impacto direto nos valores de  $\Delta H_{gel}$  estimados pelo DSC (NODA et al., 1996; SINGH et al., 2003; YUAN; THOMPSON; BOYER, 1993).

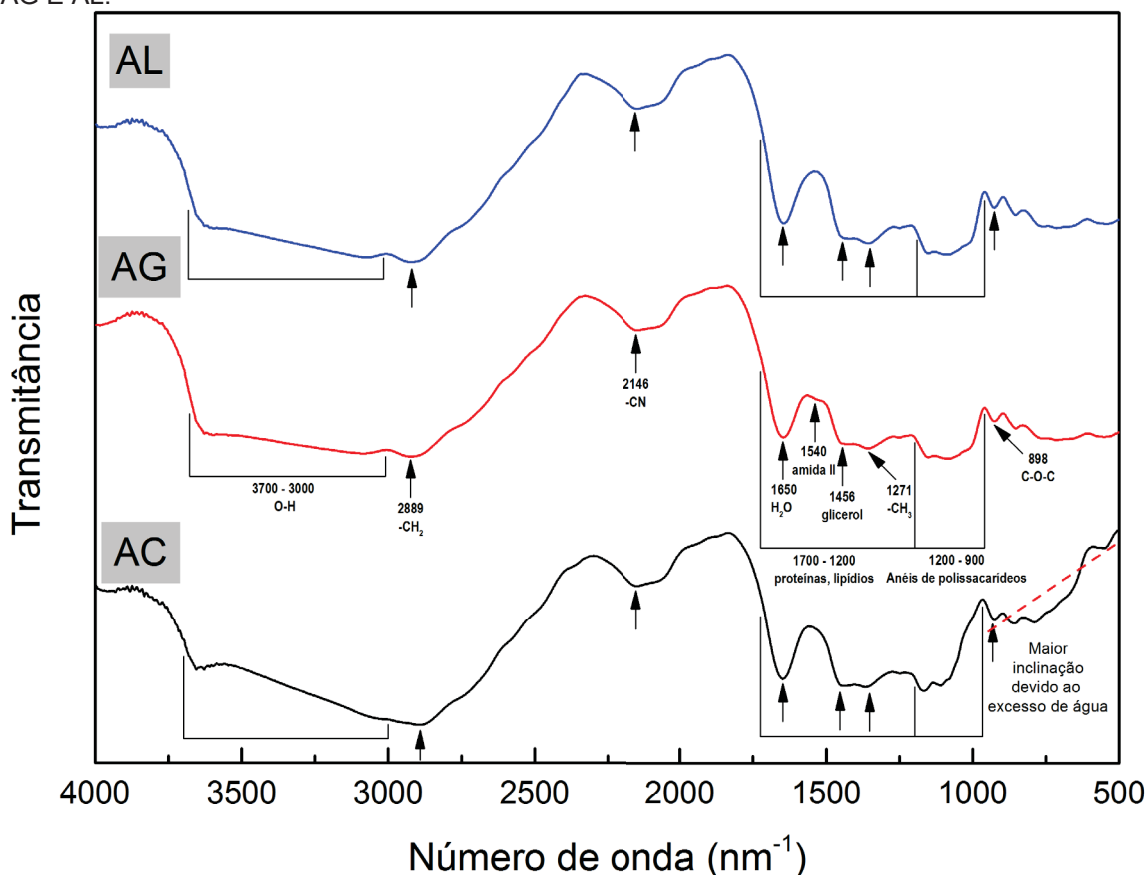
### 5.7.3 Espectroscopia de absorção no infravermelho (FTIR)

Espectros de FTIR foram adquiridos para as amostras de amido de nêspira obtidos por cada extração e estão apresentados na FIGURA 19. As

amostras apresentaram bandas características para amidos, diferindo entre si de acordo com sua umidade residual e compostos minoritários presentes.

A região de alta absorção em  $3700\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$  se refere a vibrações devido ao estiramento das ligações de O–H (Gordillo et al., 2014; Hasanvand et al., 2015; Rahim et al., 2019) de anéis de glucopirranose comumente encontrados em moléculas de amido (Lomeli-Ramírez et al., 2014). A banda em  $2889\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento assimétrico do grupo  $\text{--CH}_2$  (Hasanvand et al., 2015). Um pico de absorção é verificado para todas as amostras a  $2146\text{ cm}^{-1}$  e pode estar relacionado a vibrações devido ao estiramento do grupo  $\text{--CN}$  referente as proteínas existentes na composição destes amidos (El-Hamshary, El-Newehy & Al-Deyab, 2011). A banda em  $1650\text{ cm}^{-1}$  se refere à ligação O–H correspondente à umidade residual nas amostras de amido (Hasanvand et al., 2015; Rahim et al., 2019). A região entre  $1700$  e  $1200\text{ cm}^{-1}$  compreende picos de absorção correspondentes a compostos minoritários (como proteínas e lipídios) no amido (Warren, Gidley & Flanagan, 2016). A presença de proteínas é verificada pelas bandas em  $1670\text{ cm}^{-1}$  e  $1540\text{ cm}^{-1}$  pertencentes a estruturas de amida I e II, respectivamente (Warren, Gidley & Flanagan, 2016; Teixeira et al., 2018), especialmente na amostra AG, onde o maior conteúdo de proteína foi encontrado. A  $1456\text{ cm}^{-1}$ , o pico de absorção das vibrações de C–H do glicerol foi encontrado (Teixeira et al., 2018) e a banda de  $1371\text{ cm}^{-1}$  está relacionada à deformação angular do grupo  $\text{--CH}_3$  (Hasanvand et al., 2015). A região de  $1200\text{--}900\text{ cm}^{-1}$  inclui picos de absorção do estiramento das ligações C–O, C–C e C–O–H assim como o dobramento da ligação de C–O–H (Warren, Gidley & Flanagan, 2016) oriundos das vibrações de anéis das moléculas de polissacarídeos (Teixeira et al., 2018). Abaixo de  $900\text{ cm}^{-1}$ , outras bandas características em amidos são encontradas, incluindo o pico de absorção a  $898\text{ cm}^{-1}$  do grupo C–O–C em ligações  $\alpha\text{-1,4}$  e  $\alpha\text{-1,6}$  glicosídicas (Gordillo et al., 2014; Hasanvand et al., 2015).

**FIGURA 19** – PADRÕES DE COMPORTAMENTO DE FTIR OBTIDOS PARA OS AMIDOS AC, AG E AL.



FONTE: O autor (2019).

Comparando as amostras entre si, diferenças de afinidade de água e outras devido à presença de umidade residual são evidentes; as amostras AC e AL possuem maior umidade residual que a AG, exibindo um pico de absorção mais elevado a  $1650\text{ cm}^{-1}$ . Essa umidade residual, no entanto, se apresenta como água ligada e de excesso. De acordo com os espectros adquiridos, a amostra AC apresentou uma maior quantidade de água de excesso que as outras amostras de amido, como pode ser observado na região de  $3700\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$  e no pico de absorção a  $2889\text{ cm}^{-1}$ , ligeiramente deslocado e mascarado pela presença de água de excesso (Warren et al., 2016). Outras evidências podem ser encontradas na região de  $1200\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$  e com a elevada inclinação da linha de base da região abaixo de  $900\text{ cm}^{-1}$ , também significativamente afetadas pela presença de água de excesso Warren et al. (2016).

## 5.8 COMPOSTOS BIOATIVOS

O teor de compostos fenólicos totais (TPC) presentes nos amidos AC, AG e AL foram expressos e discutidos em mg EAG/100 g e a atividade antioxidante (AA) dos extratos metanólicos fenólicos determinados pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP expressos em  $\mu\text{mol}$  (Trolox Equivalente) TE/ 100 g. Todos os dados foram expostos na TABELA 14.

**TABELA 14** - TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS (TPC) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE AMIDOS DAS SEMENTES DE NÊSPERA PELOS ENSAIOS DPPH, ABTS E FRAP.

Teor de Fenólicos Totais e Atividade antioxidante			
	AC	AG	AL
Teor de fenólicos			
totais (mg GAE/100g)	285,18 <sup>c</sup> $\pm$ 0,87	600,20 <sup>a</sup> $\pm$ 3,51	379,53 <sup>b</sup> $\pm$ 35,44
DPPH ( $\mu\text{mol}$ TE/100g)	359,84 <sup>c</sup> $\pm$ 4,06	681,79 <sup>a</sup> $\pm$ 3,51	560,93 <sup>b</sup> $\pm$ 2,03
ABTS ( $\mu\text{mol}$ TE/100g)	1314,84 <sup>c</sup> $\pm$ 2,98	1349,92 <sup>b</sup> $\pm$ 13,17	1470,12 <sup>a</sup> $\pm$ 2,98
FRAP ( $\mu\text{mol}$ TE/100g)	684,35 <sup>b</sup> $\pm$ 0,72	853,90 <sup>a</sup> $\pm$ 6,52	220,28 <sup>c</sup> $\pm$ 2,53

Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Nota: AC: Extração ácida; AG: Extração aquosa; AL: Extração alcalina.

### 5.8.1 Teor de fenólicos totais (TFT) e capacidade antioxidante

O teor total de compostos fenólicos dos amidos AC, AL e AG variou de 285,18 mg GAE/100 g a 600,20 mg GAE/100 g (TABELA 14). A análise estatística mostrou que o TPC nos amidos analisados diminuiu significativamente ( $p < 0,05$ ) a cada extração. Contudo, o teor total de compostos fenólicos dos amidos AC e AL foi inferior ao teor de compostos fenólicos totais da amostra AG, indicando que a solução ácida e alcalina empregadas durante o processo de extração causou perda desses compostos. O ácido e o álcali atuam como solventes durante a remoção de compostos fenólicos para obter os amidos da semente de nêspira. Os valores apresentados por AC, AG e AL foram superiores aos resultados apresentados

por Barbi et al., (2018) para amidos extraídos com água (2,29 mg GAE/ 100 g a 19,07 mg GAE/ 100 g), obtidos na ocasião em diferentes condições de maturação e de obtenção do fruto (arborização urbana e comercial). Esses resultados podem ser referentes a maior necessidade da planta de proteger-se contra o ataque de invasores tais como patógenos, parasitas e predadores, além de fatores genéticos, ambientais, clima, composição do solo que influenciam a biossíntese desses compostos (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009).

Castro et al., (2018) apresentou resultados de compostos fenólicos totais para o amido de pitomba extraído por via neutra muito superior (6062,6 mg GAE/100g) aos reportados na literatura para amidos nativos investigados por (Maniglia; Tapia-Blácido, 2016). A presença de compostos fenólicos totais no amido é capaz de alterar as propriedades funcionais, reológicas, gelatinização e retrogradação (Zhu, 2015). Esses fatores explicam as diferenças de comportamento existente entre os amidos AC e AL, em comparação amido AG que demonstrou o maior valor de compostos fenólicos totais.

É possível afirmar que a diferença de cores existentes (TABELA 5) ocorre porque a extração em meio alcalino, mesmo apresentando teores médios de compostos fenólicos quando comparadas entre AC e com AG, gerou fenóxidos de compostos fenólicos associados a cromóforos (Maniglia; Tapia-Blácido, 2016).

A atividade antioxidante do amido de semente de nêspera é resultado da presença significativa de compostos fenólicos. Os valores de DPPH dos extratos fenólicos dos amidos AC, AG e AL variaram de 359,84  $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$  a 681,79  $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ . Para o ensaio ABTS os valores variaram de 1314,84  $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$  a 1470,12  $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ . No caso do ensaio FRAP, os valores das atividades antioxidantes estiveram entre 220,28  $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$  a 853,90  $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ . Em todos os testes, as amostras apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre si. Notou-se que os amidos provenientes de extração aquosa (AG) apresentaram maior potencial por DPPH e FRAP do que os amidos modificados, condizentes com os valores quantificados para TPC e com a literatura (Barbi et al., 2018). Os demais amidos obtiveram características abaixo da amostra AG. Esse resultado está associado a perda

por lixiviação ocasionada pela etapa de lavagem. Mesmo com as perdas, os valores apresentaram-se superiores a literatura.

## **6. POTENCIAL TECNOLÓGICO E APLICAÇÃO DO AMIDO MODIFICADO DE NÊSPERA**

Nos últimos anos notou-se um crescente interesse por amidos não convencionais. Narayanan et al., (2015) observaram que amidos modificados atuaram com excelente potencial para a interação fármaco-matriz. Alguns exemplos são o amido de milho modificado e utilizado como auxiliar em drogas utilizadas no tratamento deficiência de glicogênio no sangue (Correia et al., 2008) e o amido de tapioca modificado, utilizado como um importante carreador de drogas no tratamento de diarreia em ratos (Wingertzahn et al., 1999). Zhu et al., (2017) descrevem que alguns ingredientes alimentícios podem ser encapsulados com uso de amido em micro ou nano escala, porém, essa capacidade de encapsulamento está diretamente ligada ao teor de amilose e amilopectina na composição dos grânulos como descrito por Tari & Singhal (2002).

Amidos nativos e modificados foram utilizados para vários produtos, incluindo filmes e encapsulações de ingredientes alimentares, além de possuírem importante uso na indústria farmacêutica. A exemplo de outros amidos, o amido de nêspira se revelou uma alternativa interessante tanto a indústria alimentícia quanto farmacêutica. Suas características funcionais, propriedades físico-químicas e de composição química afirmam o caráter positivo quanto ao potencial desse extrato amiláceo modificado. O amido modificado de nêspira pode atuar melhorando a capacidade de formação de pasta de alimento. O amido modificado de nêspira também se apresenta como bom material termoplástico para aplicações em embalagem de alimentos.

A modificação química dos amidos é capaz de trazer melhorias significativas aos sistemas farmacológicos, trazendo mais eficiência maior aos fármacos (Masina et al., 2017).

## 7 CONCLUSÃO

A aplicação de métodos de extração ácida e alcalina para obtenção de amidos de semente de nêspera resultaram em uma maior eficiência comparados ao método neutro. Os resultados deixaram claro que a extração ácida e alcalina foram capazes de alterar a composição físico-química (redução de fibras), cristalinidade, tamanho de partícula (grânulos menores e com poucas interferências) e propriedades de pasta (maior tendência a retrogradação). Todas as amostras foram capazes de atender as exigências da legislação brasileira para extrato amiláceos comerciais. A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) revelou grânulos de amido com formato oval e esférico, porém quebradiças e bem distribuídas para amostras extraídas por via ácida e aglomeradas para amostras extraídas por meio básico e neutro. A difração de raios-X indicou que a estrutura e cristalinidade de todos os amidos era pertinente ao padrão do TIPO C, mas com um índice de cristalinidade maior devido as alterações sofridas na etapa de maceração em solução ácida e alcalina. A maior temperatura de gelatinização indicada pelo DSC foi de 62,18°C para o amido AL, com uma entalpia de 1,31 J/g. O comportamento dos géis de amidos de nêspera exibiu características de gelatinização similar aos resultados oferecidos pelo estudo das propriedades térmicas, porém a viscosidade dos amidos foi afetada pela presença de açúcares em sua composição (principalmente para a amostra AC), impactando na velocidade de formação de pasta e na tendência a retrogradação. Através do FTIR foi possível verificar o perfil de rompimento de ligações que ocorrem durante o aquecimento das amostras, sendo possível avaliar o seu comportamento durante o processamento. Os compostos fenólicos e a capacidade antioxidante apresentaram valores elevados quando comparado a literatura para amido de nêspera, mas inferiores a outros amidos não convencionais. A amostra proveniente da extração neutra apresentou uma maior quantidade de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante do que as amostras ácida e alcalina. De um modo geral, os métodos de extração aqui aplicados promovem mudanças nas propriedades morfológicas, propriedades de inchamento, comportamento térmico, capacidade de formação de pasta, além de modificações na presença de compostos bioativos. A caracterização do



material estudado, sugere que o amido de nêspira, obtido por via ácida, aquosa ou alcalina possuem um grande potencial para o uso no desenvolvimento de novos processos industriais como alternativa promissora aos amidos convencionais.

## REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA BATATA. Culturas brasileiras.2005. Disponível em: < <http://www.abbabatatabrasileira.com.br/associados.htm>>. Acesso em: 15 de outubro de 2018.

ALBANO, K. M.; FRANCO, C. M. L.; TELIS, V. R. N. Food Hydrocolloids Rheological behavior of Peruvian carrot starch gels as affected by temperature and concentration. Food hydrocolloids, v. 40, p. 30–43, 2014.

ALBERTON, C. et al. Thermal Analysis, Rheology, X-Ray Diffractometry and Atomic Force Microscopy in the Evaluation of Binary Mixtures of “Starch-Hydrocolloids”. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science, v. 3, p. 305–309, 2014.

ANDRESGALINDEZ, LUIS DANIEL DAZA, ANGIEHOMEZ-JARA, VALERIA S.EIM, H. A. Characterization of ulluco starch and its potential for use in edible films prepared at low drying temperature. Carbohydrate Polymers, v. 215, n. January, p. 143–150, 2019. Elsevier.

ANDRADE, M. M. P. et al. Effects of heat-moisture treatment on organic cassava starch: Thermal, rheological and structural study. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v. 115, n. 3, p. 2115–2122, 2013.

BARBI, R. et al. *Eriobotrya japonica* seed as a new source of starch: Assessment of phenolic compounds, antioxidant activity, thermal, rheological and morphological properties. Food Hydrocolloids, v. 77, p. 646 - 658, 2018.

BENINCA, C. et al. The thermal, rheological and structural properties of cassava starch granules modified with hydrochloric acid at different temperatures. Thermochemical Acta, v. 552, p. 65–69, 2013.

BELLO-PÉREZ, L. A.; GARCÍA-SUÁREZ, F. J.; MÉNDEZ-MONTEALVO, G.; et

al. Isolation and characterization of starch from seeds of *Araucaria brasiliensis*: A novel starch for application in food industry. *Starch/Staerke*, v. 58, n. 6, p. 283–291, 2006.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. v. 76, p. 70–76, 1996.

BERTOFT, E. On the nature of categories of chains in amylopectin and their connection to the super helix model. *Carbohydrate Polymers*, v. 57, n. 2, p. 211–224, 2004.

BLENNOW, A.; METTE BAY-SMIDT, A.; BAUER, R. Amylopectin aggregation as a function of starch phosphate content studied by size exclusion chromatography and on-line refractive index and light scattering. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 28, n. 5, p. 409–420, 2001.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of 2,3-butanediol. *Journal of sensory and nutritive qualities of food*, v. 65, n. 3600, p. 1248–1252, 2000.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. , v. 6, p. 420–428, 2005.

CATARINA DE OLIVEIRA GUIMARÃES, Í.; PEREIRA, J.; MARIA DE OLIVEIRA CORNÉLIO, V.; ROBERTO BATISTA, L.; FERREIRA, E. B. MICROSTRUCTURAL AND RHEOLOGICAL PROPERTIES OF IRRADIATED RICE Propriedades microestrutural e reológica de arroz irradiado. , p. 237–243, 2013.

CHUNG, H. J.; LIU, Q.; HOOVER, R. Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. *Carbohydrate Polymers*, v. 75, n. 3, p. 436–447, 2009.

CRUZ-OREA, A. et al. Phase Transitions in the Starch – Water System Studied by Adiabatic Scanning Calorimetry. v. 50, n. 6, p. 1335–1344, 2002.

DA COSTA, F. J. O. G. et al. Characterisation of native starches of seeds of *Araucaria angustifolia* from four germplasm collections. *Thermochimica Acta*, v. 565, p. 172–177, 2013.

DE ALMEIDA LOPES, M. M.; SANCHES, A. G.; DE SOUZA, K. O.; DE OLIVEIRA SILVA, E. Loquat/Nispero— *Eriobotrya japonica* Lindl. *Exotic Fruits*, p. 285–292, 2018.

DEFFENBAUGH, L. B.; WALKER, C. E. Use of the Rapid-Visco-Analyzer to Measure Starch Pasting Properties. Part I: Effect of Sugars. *Starch - Stärke*, v. 41, n. 12, p. 461–467, 1989.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. DA. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. *Ciência Rural*, v. 39, n. 3, p. 945–954, 2009.

DEMIATE, I. M.; KOTOVICZ, V. Cassava starch in the Brazilian food industry. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 31, n. 4204, p. 388–397, 2011.

EL-SHARKAWY, M. A. Cassava biology and physiology. *Plant Molecular Biology*, v. 56, n. 4, p. 481–501, 2004.

ELIASSON, A. C. Starch in food: structure, function and applications. [s.l.: s.n.]. EMBUSCADO, M. E. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants - A mini review. *Journal of Functional Foods*, v. 18, p. 811–819, 2015.

EL-SHARKAWY, M. A.; Cassava biology and physiology. *Plant molecular Biology*. 56: 481-501, 2014

FRANKLIN, M. E. E.; PUSHPADASS, H. A.; KUMAR, B.; et al. Physicochemical, thermal, pasting and microstructural characterization of commercial *Curcuma angustifolia* starch. *Food Hydrocolloids*, v. 67, p. 27–36, 2017. Elsevier Ltd.

FERRERES, F. et al. Improved loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars: Variation of phenolics and antioxidative potential. *Food Chemistry*, v. 114, n. 3, p. 1019–1027, 2009.

FUCHS, M.; TURCHIULI, C.; BOHIN, M.; et al. Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, v. 75, n. 1, p. 27–35, 2006.

GARCIA, E. L. et al. Batata como fonte de amido: avaliação dos teores de fósforo, amilose e propriedades térmicas. IX Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria, p. 5, 2014.

GARCIA, V. et al. Structural Changes of Cassava Starch Granules after Heating at Intermediate Water Contents. *Starch - Stärke*, v. 49, n. 5, p. 171–179, 1997.

GÉRARD, C. et al. Amylose determination in genetically modified starches. *Carbohydrate Polymers*, v. 44, n. 1, p. 19–27, 2001.

GONÇALVES, P. M.; NOREÑA, C. P. Z.; DA SILVEIRA, N. P.; BRANDELLI, A. Characterization of starch nanoparticles obtained from *Araucaria angustifolia* seeds by acid hydrolysis and ultrasound. *LWT - Food Science and Technology*, v. 58, n. 1, p. 21–27, 2014.

GOÑI, O.; ESCRIBANO, M. I.; MERODIO, C. Gelatinization and retrogradation of native starch from cherimoya fruit during ripening, using differential scanning

calorimetry. *LWT - Food Science and Technology*, v. 41, n. 2, p. 303–310, 2008.

GUO, K.; LIN, L.; FAN, X.; ZHANG, L.; WEI, C. Comparison of structural and functional properties of starches from five fruit kernels. *Food Chemistry*, v. 257, n. October 2017, p. 75–82, 2018.

HALLIWELL, B. ANTIOXIDANTS IN HUMAN HEALTH AND DISEASE. p. 33–50, 1996.

HAMINIUK, C. W. I. et al. Invited review Phenolic compounds in fruits – an overview. p. 1–22, 2012.

HAN, X. Z. et al. Influence of maize starch granule-associated protein on the rheological properties of starch pastes. Part I. Large deformation measurements of paste properties. *Carbohydrate Polymers*, v. 49, n. 3, p. 315–321, 2002.

HAYES, R. et al. Core-shell particles: Preparation, fundamentals and applications in high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, v. 1357, p. 36–52, 2014.

HENRIQUE, C. M.; CEREDA, M. P.; BRUDER, S.; SARMENTO, S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca Physical characteristics of cassava modified starch films. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n. 1, p. 231–240, 2008.

HOLDSWORTH, S. D. Applicability of Rheological Models to the Interpretation of Flow and Processing Behaviour of Fluid Food Products. *Journal of Texture Studies*, v. 2, n. 4, p. 393–418, 1971.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A review. *Carbohydrate Polymers*, v. 45, n. 3, p. 253–267, 2001.

HORNUNG, P. S. et al. Brazilian Dioscoreaceas starches. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, p. 1–9, 2016.

HORST, M. A.; LAJOLO, F. M. Biodisponibilidade de Compostos Bioativos de Alimentos. *Nutrisaude*, p. 1306–1311, 2009.

INÊS, M. et al. Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds: A review. *Industrial Crops & Products*, v. 82, p. 9–22, 2016.

IONASHIRO, M. *Giolito - Fundamentos da Termogravimetria Análise Térmica Diferencial Calorimetria Exploratória Diferencial*. [s.l.: s.n.].

JR., S. V. C. *Ciência dos Polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros*. 2. ed. [s.l.: s.n.].

KOBA, K. et al. Effect of loquat (*Eriobotrya japonica*) extracts on LDL oxidation. *Food Chemistry*, v. 104, n. 1, p. 308–316, 2007.

KAWAHITO, Y; Kondo, M; Machmudah, S; Sibano, S; Sasaki, Goto, M. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of biological active compounds from loquat seed. *Separation and Purification Technology*, 2007

LACERDA, L. G. et al. Thermal, structural and rheological properties of starch from avocado seeds (*Persea americana*, Miller) modified with standard sodium hypochlorite solutions. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 115, n. 2, p. 1893–1899, 2014.

LI, D. W. et al. Activity-guided isolation of saponins from *Kalopanax pictus* with anti-inflammatory activity. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, v. 50, n. 7, p. 900–903, 2002.

LIU, Q. *Understanding Starches and Their Role in Foods*. *Food Carbohydrates. Chemistry, Physical Properties and Applications*, p. 309–355, 2005.

LIU, R. H. Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science*, v. 46, n. 3, p. 207–219, 2007.

MA, X.; JIAN, R.; CHANG, P. R.; YU, J. Fabrication and characterization of citric acid-modified starch nanoparticles/plasticized-starch composites. *Biomacromolecules*, v. 9, n. 11, p. 3314–3320, 2008.

MANACH, C. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr. American Journal of Clinical Nutrition*, v. 79, n. October 2004, p. 727–747, 2004.

MANIGLIA, B. C.; TAPIA-BLÁCIDO, D. R. Isolation and characterization of starch from babassu mesocarp. *Food Hydrocolloids*, v. 55, p. 47–55, 2016.

MATSUGUMA, L. S.; LACERDA, L. G.; SCHNITZLER, E.; et al. Characterization of native and oxidized starches of two varieties of Peruvian carrot (*Arracacia xanthorrhiza*, B.) from two production areas of Paraná state, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 52, n. 3, p. 701–713, 2009.

MORGAN, N. K.; CHOCT, M. Cassava: Nutrient composition and nutritive value in poultry diets. *Animal Nutrition Journal*, 2016.

MOURE, Â. et al. Natural antioxidants from residual sources. v. 72, 2001.

NOIPA, T. et al. New approach for evaluation of the antioxidant capacity based on scavenging DPPH free radical in micelle systems. *Food Research International*, v. 44, n. 3, p. 798–806, 2011.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: Estudo de revisão. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 17, n. 1, p. 36–44, 2015.



OLIVEIRA, A. C. DE et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Química Nova*, v. 32, n. 3, p. 689–702, 2009.

OLIVEIRA, M. A. DE; YOSHIDA, M. I.; LIMA GOMES, E. C. DE. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. *Química Nova*, v. 34, n. 7, p. 1224–1230, 2011.

PAL, R. Rheology of simple and multiple emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, v. 16, n. 1, p. 41–60, 2011.

PANTELIĆ, M. M. et al. Identification and quantification of phenolic compounds in berry skin, pulp, and seeds in 13 grapevine varieties grown in Serbia. *Food Chemistry*, v. 211, p. 243–252, 2016.

PAREEK, S. et al. Postharvest physiology and technology of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 94, n. 8, p. 1495–1504, 2014.

PARKER, R.; RING, S. G. Aspects of the Physical Chemistry of Starch. *Advances in Carbohydrate Chemistry*, v. 11, n. C, p. 335–393, 2001.

PATEL, B. K.; SEETHARAMAN, K. Effect of heating rate at different moisture contents on starch retrogradation and starch-water interactions during gelatinization. *Starch/Staerke*, v. 62, n. 10, p. 538–546, 2010.

PEREZ, S. et al. *Starch: Chemistry and technology*. [s.l: s.n.].

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, n. 10, p. 4290–4302, 2005.

PÉREZ, S.; BERTOFT, E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. *Starch/Staerke*, v. 62, n. 8, p. 389–420, 2010.

PUNCHA-ARNON, S.; UTTAPAP, D. Rice starch vs. rice flour: Differences in their properties when modified by heat-moisture treatment. *Carbohydrate Polymers*, v. 91, n. 1, p. 85–91, 2013.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, n. 8, p. 3396–3402, 2000.

QUIDEAU, S. et al. Natural Products Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis \*\* *Angewandte*. v. 50, p. 586–621, 2011.

RAVI, R.; SAI MANOHAR, R.; HARIDAS RAO, P. Use of Rapid Visco Analyser (RVA) for measuring the pasting characteristics of wheat flour as influenced by additives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 79, n. 12, p. 1571–1576, 1999.

RAATZ, S. K. et al. Resistant starch analysis of commonly consumed potatoes: Content varies by cooking method and service temperature but not by variety. *Food Chemistry*, v. 208, p. 297–300, 2016.

RAO, A. Rheology of Fluid, Semisolid, and Solid Foods: Principles and Applications. *Rheology of Fluid, Semisolid, and Solid Foods*, v. 19, p. 461, 2014.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and medicine*, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, 1999.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. *Química de Alimentos* 2° ed. Instituto Mauá de Tecnologia. 2. ed. [s.l.] Instituto Mauá de Tecnologia, 2003.

RUFINO, M. D. S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). Comunicado técnico, v. 125, p. 1–4, 2006.

SANDOVAL GORDILLO, C. A.; AYALA VALENCIA, G.; VARGAS ZAPATA, R. A.; AGUDELO HENAO, A. C. Physicochemical Characterization of Arrowroot Starch (*Maranta arundinacea* Linn) and Glycerol/Arrowroot Starch Membranes. *International Journal of Food Engineering*, v. 10, n. 4, p. 727–735, 2014.

SCHRAMM, G. A Practical Approach to Rheology and Rheometry. *Rheology*, p. 291, 1994.

SEKHER PANNALA, A et al. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast reaction kinetics. *Biochemical and biophysical research communications*, v. 282, p. 1161–1168, 2001.

SILVA, G. DE O. DA; TAKIZAWA, F. F.; PEDROSO, R. A.; et al. Características físico-químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 26, n. 1, p. 188–197, 2006.

SILVA, E. M. DA. Produção e caracterização de filmes biodegradáveis de amido de pinhão. [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2011.

SIMARELLI, M. FRUTAS E DERIVADOS. *Frutas e derivados*, v. 4, n. 12, p. 41, 2009.

SINGH, N. et al. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. v. 81, p. 219–231, 2003.

SINGH, J.; KAUR, L.; MCCARTHY, O. J. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications-A review. *Food Hydrocolloids*, v. 21, n. 1, p. 1–22, 2007.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, v. 299, n. 1974, p. 152–178, 1999.

SONG, Y.; JANE, J. Characterization of barley starches of waxy, normal, and high amylose varieties. *Carbohydrate Polymers*, v. 41, n. 4, p. 365–377, 2000.

SRICHUWONG, S. et al. Starches from different botanical sources II: Contribution of starch structure to swelling and pasting properties. *Carbohydrate Polymers*, v. 62, n. 1, p. 25–34, 2005.

SRITHAM, E.; GUNASEKARAN, S. Thermal evaluation of sucrose-maltodextrin-sodium citrate bioglass: Glass transition temperature. *Food Hydrocolloids*, v. 60, p. 589–597, 2016.

STEFFE, J. F. *Rheological Methods in Food Process Engineering*. [s.l.: s.n.]. v. 23

TADROS, T. F. *Rheology of Dispersions: Principles and Applications*. [s.l.: s.n.].

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch - Composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, v. 39, n. 2, p. 151–165, 2004.

TIAN, S.; QIN, G.; LI, B. 17 Loquat (. In: *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits*. China: [s.n.]. p. 444.

TOKUSOGLU, O.; HALL, C. *Fruit and Cereal Bioactives Sources, Chemistry and Applications*. [s.l.] CRC Press, 2011.

WEBER, F. H.; QUEIROZ, F. P. C.; CHANG, Y. K. Caracterização físico-química, reológica, morfológica e térmica dos amidos de milho normal, ceroso e com alto teor de amilose. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 29, n. 4, p. 748–753, 2009.

XU, H. XIA; CHEN, J. WEI. Commercial quality, major bioactive compound content and antioxidant capacity of 12 cultivars of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 91, n. 6, p. 1057–1063, 2011.

Y.P, S. BAJAJ. *Biotechnology in Agriculture and Forestry* 16. India: [s.n.].

ZEEMAN, S. C.; KOSSMANN, J.; SMITH, A. M. Starch: Its Metabolism, Evolution, and Biotechnological Modification in Plants. *Annual Review of Plant Biology*, v. 61, n. 1, p. 209–234, 2010.